

Dottorato di Ricerca in Scienze Chimiche
Settore disciplinare Chimica Organica CHIM/06
XXII Ciclo

*Nuove proline modificate
per applicazioni in
peptidomimetica*

Dott. Marco Lumini

Tutore:
Prof. Alberto Brandi

Coordinatore:
Prof. Gianni Cardini

2007-2009

<u>1</u>	<u>LA PEPTIDOMIMETICA: FATTORI CARATTERISTICI</u>	<u>1</u>
<u>2</u>	<u>SINTESI STEREOSELETTIVE DI ANALOGHI PROLINICI QUATERNARI</u>	<u>- 9 -</u>
<u>2.4</u>	<u>TRASFERIMENTO DI CHIRALITA' ATTRAVERSO LA FORMAZIONE DI ILIDI D'AMMONIO CICLICHE</u>	<u>- 19 -</u>
<u>3</u>	<u>SINTESI DI DERIVATI OMOPROLINICI</u>	<u>- 21 -</u>
<u>4</u>	<u>SINTESI DI PROLINE A-SOSTITUITE ATTRAVERSO REAZIONI DI <i>CROSS-METATHESIS</i></u>	<u>- 27 -</u>
<u>5</u>	<u>SINTESI DI PROLINE A-SOSTITUITE ATTRAVERSO REAZIONI DI <i>CLICK-CHEMISTRY</i></u>	<u>- 78 -</u>
<u>6</u>	<u>SINTESI DI B-OMOPROLINE E TRIPEPTIDI MIRATI ALL'ATTIVITA' ANTIVIRALE</u>	<u>- 102 -</u>
<u>7</u>	<u>SINTESI DI B-LATTAMI SOSTITUITI CON ANELLI CICLOPROPANICI SPIROFUSI E LORO APPLICAZIONI COME <i>BUILDING BLOCKS</i> PER PROCESSI DI POLIMERIZZAZIONE</u>	<u>- 177 -</u>

1 LA PEPTIDOMIMETICA: FATTORI CARATTERISTICI

Durante gli ultimi anni sono stati scoperti un gran numero di peptidi bioattivi che svolgono le loro funzioni come neurotrasmettitori, neuromodulatori, ormoni o antigeni, intervenendo sulla trasmissione dei segnali intra- ed intercellulari tramite una nutrita serie di recettori di membrana. Peptidi e proteine biologicamente attivi regolano la maggior parte dei processi fisiologici e rappresentano importanti *targets* per potenziali applicazioni mediche per l'intero spettro delle malattie umane.¹ Tuttavia l'uso di peptidi come farmaci soffre di svariate limitazioni² che possono essere così individuate:

- Stabilità limitata verso l'azione delle peptidasi del tratto gastro-intestinale o del siero ($t_{1/2}$ dell'ordine di minuti).
- Scarsa capacità di assorbimento da parte dell'organismo dovuta all'alto peso molecolare o alla mancanza di uno specifico sistema di trasporto.
- Rapida escrezione attraverso il fegato e/o i reni.
- Effetti secondari indesiderati dovuti all'elevata flessibilità che permette interazioni con più tipi di recettori.

In risposta a queste problematiche, si è sviluppata una branca della chimica dei peptidi nota come **peptidomimetica**. Secondo Hruby e Balse³ si definisce **peptidomimetico** un composto che mima la porzione farmacofora del peptide naturale nello spazio a tre dimensioni, mostrando una somiglianza facilmente identificabile con un peptide, e una bioattività, sia come agonista che come antagonista, equivalente, o maggiore rispetto al peptide nativo. Inoltre esistono e sono sempre più sviluppati mimetici non-peptidici, ossia molecole che non presentano somiglianza identificabile con un peptide o suoi isosteri, pur possedendo analoghi effetti biologici del peptide nativo.⁴

Partendo da piccole modifiche della struttura peptidica iniziale fino alla generazione di mimetici puramente non-peptidici la strategia sintetica dei peptidomimetici può essere così riassunta:

- 1) Modificazioni della sequenza peptidica tramite inserimento di amminoacidi α -C-alchilati, α -N-alchilati, D-amminoacidi, amminoacidi α,β -insaturi, amminoacidi ciclici, β -amminoacidi.

¹ *Handbook of Biologically Active Peptides* (Ed.: A. J. Kastin), Academic Press, Elsevier, London, 2006.

² (a) Giannis, A.; Rüsban, F.; *Adv. Drug Res.* **1997**, *29*, 1. (b) Adessi, C.; Soto, C. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 963.

³ Hruby, V. J.; Balse, P. M. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 945.

⁴ Prasad, V.; Birzin, E. T.; Mcvaugh, C. T.; van Rijn, R. D.; Rohrer, S. P.; Chicchi, G.; Underwood, D. J.; Thornton, E. R.; Smith III, A. B.; Hirschmann, R. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1858.

- 2) Modifiche del *backbone* peptidico: sostituzioni isostere del legame ammidico, isomeri retro-inverso, depsi-, aza-, tio-peptidi.
- 3) Restrizione della libertà conformazionale tramite introduzione di ponti di varia lunghezza fra differenti parti della molecola.
- 4) Introduzione e stabilizzazione di strutture secondarie quali α -eliche, β -sheet, β - e γ -turns.
- 5) Strutture molecolari non naturali utili a sostenere le catene laterali richieste per l'attività biologica.
- 6) Mimetici non-peptidici, ossia molecole senza apparenti relazioni strutturali con il peptide di partenza.

Le modifiche descritte nei punti 1 e 4 possono essere utilizzate per introdurre un'organizzazione tridimensionale delle catene laterali e delle funzionalità del *building block* peptidico adatta all'attività biologica della porzione farmacofora.^{5,6,7}

L'induzione e la stabilizzazione di strutture secondarie nei peptidi rappresenta una delle strategie sintetiche più utili in peptidomimetica per indurre riarrangiamenti spaziali delle catene laterali e dalla conformazione del backbone necessari per l'attività biologica della porzione farmacofora.⁸ In particolare, i *reverse turns*, cioè le strutture dove il polipeptide inverte completamente la direzione, giocano un ruolo chiave nel riconoscimento molecolare, poiché permettono una presentazione degli amminoacidi della porzione farmacofora stericamente controllata.⁹

Tra i *reverse turns*, i β -turns sono i più comuni. Questo tipo di ripiegamento si presenta allorché in una sequenza tetrapeptidica, che non fa parte di una regione ad elica, la distanza fra il C- α del primo amminoacido (i) e l'analogo carbonio del quarto residuo ($i+3$) è minore di 7 Å (**Fig 1**).¹⁰

⁵ Aube, J. Recent Advances in Peptidomimetics. *Tetrahedron Symposia-in-Print No. 50* **2000**, 56, 9725.

⁶ Seitz, O.; Heinemann, I.; Mattes, A.; Waldmann, H. *Tetrahedron* **2001**, 57, 2247.

⁷ Belvisi, L.; Colombo, L.; Colombo, M.; Di Giacomo, M.; Manzoni, L.; Vodovivec, B.; Scolastico, C. *Tetrahedron* **2001**, 57, 6463.

⁸ Per alcuni esempi, vedi: (a) Cowell, S. M.; Lee, Y. S.; Cain, J. P.; Hruby, V. J. *Curr. Med. Chem.* **2004**, 11, 2785. (b) Toniolo, C.; Crisma, M.; Formaggio, F.; Peggion, C. *Biopolymers (Pept. Sci.)* **2001**, 60, 396. (c) Hruby, V. J.; Li, G.; Haskell-Luevano, C.; Shenderovich, M. *Biopolymers (Pept. Sci.)* **1997**, 43, 219. (d) *Synthesis of Peptides and Peptidomimetics*, Goodman, M.; Felix, A.; Moroder, L.; Toniolo, C. Eds., Georg Thieme, Stuttgart, 2001. (e) Bursavich, M. G.; Rich, D. H. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 541. (f) Ripka, A. S.; Rich, D. H. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, 2, 441. (g) Gante, J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 1699.

⁹ Kahn, M. *Tetrahedron Symposia-in-Print* **1993**, 49, 3433.

¹⁰ Rose, G. D.; Gierasch, L. M.; Smith, J. A. *Adv. Protein Chem.* **1985**, 49, 3467.

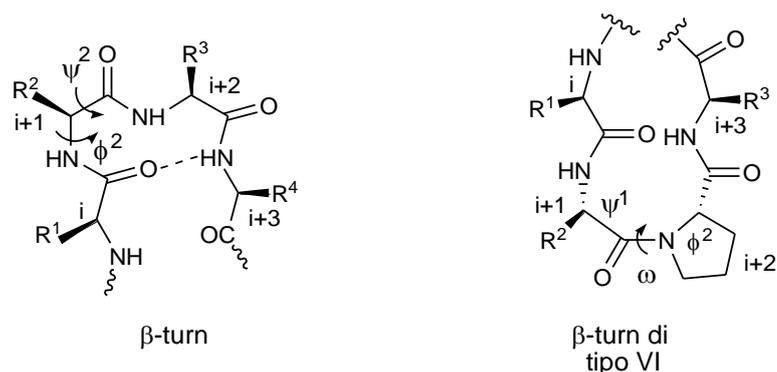


Fig. 1. Struttura dei β -turn e dei β -turn di tipo VI.

Il gruppo C=O del primo residuo può essere legato con legame ad idrogeno al gruppo NH del quarto amminoacido formando un ciclo a 10 termini. In assenza di legami a idrogeno intramolecolari può essere usato il termine *open turn*. Un'ulteriore classificazione dei β -turns è basata sui valori degli angoli di rotazione ϕ e ψ nei residui ($i+1$) ed ($i+2$) (**Fig. 1**).

Fra gli amminoacidi proteinogenici solo la prolina, l'unico a struttura ciclica, è in grado di formare facilmente legami peptidici di configurazione *cis* e dar luogo ad isomerizzazioni *cis-trans*.¹¹ In particolare, la prolina è spesso coinvolta nell'enucleazione di β -turns di tipo VI allorché occupa la posizione ($i+2$) del ripiegamento.¹² Il β -turn di tipo VI è l'unico che incorpora un legame peptidico *s-cis*, favorito appunto dalla presenza della prolina in posizione ($i+2$).

Oltre all'induzione di un β -turn la presenza di proline all'interno di catene peptidiche, grazie alla loro capacità di cambiare la direzione della catena, può generare ripiegamenti *hairpin* sulla superficie delle proteine facendo in modo che queste assumano strutture sferiche o globulari.¹³

Le proline, inoltre, rivestono un ruolo fisiologico chiave nella protezione di peptidi biologicamente attivi contro la degradazione enzimatica¹⁴ La generazione di un polipeptide attivo comporta l'azione di un'endopeptidasi che rompe il precursore in specifici siti, seguita da un "riordinamento" proteolitico ad opera delle esopeptidasi che riducono la catena polipeptidica nella

¹¹ (a) Chalmers, D. K.; Marshall, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5927 (b) Hoffmann, T.; Lanig, H.; Waibel, R.; Gmeiner, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3361. (c) Wookhyun, K.; McMillan, R. A.; Snyder, J. P.; Conticello, V. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18121. (d) Bittermann, H.; Gmeiner, P. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 97. (e) Vartak, A. P.; Johnson, L. L. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 983.

¹² (a) Richardson, J. S. *Adv. Protein Chem.* **1981**, *34*, 167. (b) Richardson, J. S.; Richardson, D. C. *Prediction of Protein structure and the Principle of Protein Conformation*, (G. D. Fasman Ed.), plenum Press, New York, **1989**

¹³ (a) Yaron, A.; Naider, F. *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1993**, *28*, 31. (b) Anfinsen, C. B.; Scheraga, H. A. *Adv. Protein Chem.* **1975**, *29*, 205. (c) Crawford, J. L.; Lipscomb, W. N.; Schellmann, C. G. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1973**, *70*, 538.

¹⁴ (a) Cunningham, D. F.; O'Connor, B. *Biochem. Biophys. Acta* **1997**, *1343*, 160. (b) Cardillo, G.; Gentilucci, L.; Qasem, A. R.; Sgarzi, F.; Spampinato, S. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2571.

sua giusta misura. La catena peptidica deve possedere alcuni elementi strutturali o biochimici per prevenire un'eccessiva idrolisi e la conseguente perdita di attività biologiche.

La particolare conformazione e le caratteristiche biologiche conferite ad un peptide dalla presenza della prolina agiscono come elementi strutturali che limitano la suscettibilità della catena polipeptidica alla proteolisi e influiscono sulla sua interazione verso altre proteine, tra cui gli enzimi, spesso incrementandone la selettività e la potenza.^{8, 15} Per questi motivi analoghi della prolina¹⁶ sono studiati con sempre maggiore interesse per il loro ruolo chiave nella nucleazione di strutture secondarie e quindi del comportamento biologico dei peptidi nei quali sono inseriti.¹⁷

Nel nostro gruppo di ricerca gli studi sono stati rivolti soprattutto alla sintesi di nuovi amminoacidi non naturali tra cui proline α -sostituite contenenti sulla catena diverse funzionalizzazioni di natura lipidica, eterociclica, o saccaridica e derivati β -omoprolinici.

L'impiego di amminoacidi $C^{\alpha,\alpha}$ -disostituiti si è dimostrato un vantaggioso strumento nella progettazione di un peptidomimetico. L'incorporazione di questi *building blocks* conformazionalmente costretti all'interno di peptidi bioattivi, infatti, risulta fondamentale per il controllo della loro flessibilità conformazionale e per lo studio delle loro conformazioni biologicamente attive.¹⁸

α -Amminoacidi aventi una lunga catena laterale lipofila possono favorire l'interazione del peptide con le tasche idrofobiche presenti in un sito enzimatico, migliorare la capacità di attraversamento della membrana cellulare e fornire una migliore resistenza nei confronti degli attacchi degli enzimi proteolitici.¹⁹

Proline modificate, tra cui proline α -sostituite^{16b, 20} sono oggetto d'interesse anche come importanti sintoni in chimica organica. Per esempio, α -metilproline stimolano la sintesi del

¹⁵ Per *reviews* sul ruolo della prolina nella regolazione proteolitica di ormoni e peptidi biologicamente attivi, vedi: (a) Yaron, A. *Biopolymers* **1987**, *26*, 215. (b) Mentlein, R. *FEBS Lett.* **1988**, *234*, 251.

¹⁶ (a) Karoyan, P.; Sagan, S.; Lequin, O.; Quancard, J.; Lavielle, S.; Chassaing, G. "Substituted Prolines: Syntheses and Applications in Structure–Activity Relationship Studies of Biologically Active Peptides, in *Targets in Heterocyclic Systems – Chemistry and Properties* (Eds: O. A. Attanasi, D. Spinelli), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2005**, *8*, 216. (b) Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 645. (c) Mauger, A. B. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 1205.

¹⁷ (a) Reiersen, H.; Rees, A. R. *Trends Biochem. Sci.* **2001**, *26*, 679. (b) Vanhoof, G.; Goossens, F.; de Meester, I.; Hendriks, D.; Scharpé, S. *FASEB J.* **1995**, *9*, 736. (c) MacArthur, M. W.; Thornton, J. M. *J. Mol. Biol.* **1991**, *218*, 397.

¹⁸ (a) Toniolo, C.; Benedetti, E. *Macromolecules*, **1991**, *24*, 4004. (b) Crisma, M.; Bonora, G. M.; Toniolo, C.; Barone, V.; Benedetti, E.; Di Blasio, B.; Pavone, V.; Pedone, C.; Santini, A.; Fraternali, F.; Bavoso, A.; Lelj, F. *Int. J. Biol. Macromol.* **1989**, *11*, 345. (c) Crisma, M.; Valle, G.; Bonora, G. M.; Toniolo, C.; Lelj, F.; Barone, V.; Fraternali, F.; Hardy, P. M.; Mala, H. L. S. *Biopolymers* **1991**, *31*, 637. (d) Di Blasio, B.; Pavone, V.; Lombardi, A.; Pedone, C.; Benedetti, E. *Biopolymers* **1993**, *33*, 1037. (e) Burgess, A. W. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 2649.

¹⁹ Papini, A. M.; Nardi, E.; Nuti, F.; Uziel, J.; Ginanneschi, M.; Chelli, M.; Brandi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2736.

²⁰ Per altre *reviews* su α -amminoacidi α,α -disostituiti, vedi: (a) Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D. *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, *9*, 3517. (b) Nájera, C. *Synlett* **2002**, 1388. (c) Park, K.-H.; Kurth, M. J.; *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 8629. (d) Kotha, S. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 342. (e) Ohfuné, Y.; Shinada, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 5127. (f) Toniolo, C.;

collagene,²¹ un' *N*-idrossi-2-[(arilsulfonil)metil]prolinammide ha mostrato di essere un potente e selettivo inibitore di MMP,²² l'acido 1-acil-2-isopropil-5-arilpirrolidin-2,4-dicarbossilico sembra sia un inibitore efficace del virus dell'epatite C,²³ e la kaitocefalina naturale è un potente antagonista per i recettori NMDA e AMPA/KA.²⁴

Infine, proline modificate sono fra i più importanti catalizzatori impiegati recentemente in processi di Catalisi Organica.

β -Aminoacidi rappresentano importanti *target* in chimica organica sia per il loro ruolo come intermedi sintetici²⁵ che come componenti chiave di numerosi composti biologicamente attivi,²⁶ di peptidomimetici²⁷ e di β -peptidi.^{28,29}

β -Peptidi costituiti da omologhi di aminoacidi proteinogenici sono stati preparati e studiati per la prima volta a metà degli anni 90.³⁰ In meno di dieci anni, questi si sono evoluti come una classe

Formaggio, F.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. B. *Synlett* **2006**, 1295. (g) Vogt, H.; Bräse, S. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 406.

²¹ Lubec, G.; Labudova, O.; Seebach, D.; Beck, A.; Hoeger, H.; Hermon, M.; Weninger, M. *Life Sci.* **1995**, *57*, 2245.

²² Becker, D. P.; DeCrescenzo, G.; Freskos, J.; Getman, D. P.; Hockerman, S. L.; Li, M.; Mehta, P.; Munieb, G. E.; Swearingen, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2723.

²³ Burton, G.; Ku, T. W.; Carr, T. J.; Kiesow, T.; Sarisky, R. T.; Lin-Goerke, J.; Baker, A.; Earnshaw, D. L.; Hofmann, G. A.; Keenan, R. M.; Dhanak, D.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1553.

²⁴ (a) Shin-ya, K.; Kim, J. S.; Furihata, K.; Hayakawa, Y.; Seto, H. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7079. (b) Watanabe, H.; Okue, M.; Kobayashi, H.; Kitahara, T. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 861.

²⁵ Per alcuni esempi selezionati, vedi: (a) Escalante, J.; González-Tototzin, M. A.; Aviña, J.; Muñoz-Muñiz, O.; Juaristi, E. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1883. (b) Krishnaswamy, D.; Govande, V. V.; Gumaste, V. K.; Bhawal, B. M.; Deshmukh, A. R. A. S. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2215. (c) Sleeman, M. C.; MacKinnon, C. H.; Hewitson, K. S.; Schofield, C. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 597. (d) Brashear, K. M.; Hunt, C. A.; Kucer, B. T.; Duggan, M. E.; Hartman, G. D.; Rodan, G. A.; Rodan, S. B.; Leu, C.; Prueksaritanont, T.; Fernandez-Metzler, C.; Barrish, A.; Homnick, C. F.; Hutchinson, J. H.; Coleman, P. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 3483. (e) Martinek, T.; Tóth, G. K.; Vass, E.; Hollósi, M.; Fülöp, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1718. (f) Gedey, S.; Van der Eycken, J.; Fülöp, F. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1967. (g) Bonache, M. A.; Geroná-Navarro, G.; García-Aparicio, C.; Alías, M.; Martín-Martínez, M.; García-López, M. T.; López, P.; Cativiela, C.; González-Muñiz, R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2161.

²⁶ (a) Harrison, J. R.; O'Brien, P.; Porter, D. W.; Smith, N. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 3623. (b) Sielecki, T. M.; Wityak, J.; Liu, J.; Mousa, S. A.; Thoolen, M.; Wexler, R. R.; Olson, R. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 449. (c) Müller, G.; Albers, M.; Fischer, R.; Heßler, G.; Lehmann, T. E.; Okigami, H.; Tajimi, M.; Bacon, K.; Rölle, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 3019. (d) Mahboobi, S.; Popp, A.; Burgemeister, T.; Schollmeyer, D. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 2369. (e) DeVita, R.; Goulet, M. T.; Wyratt, M. J.; Fisher, M. H.; Lo, J.-L.; Yang, Y. T.; Cheng, K.; Smith, R. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2621. (f) Ojima, I.; Lin, S.; Wang, T. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 927. (g) Scarborough, R. M. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 971.

²⁷ (a) Steer, D. L.; Lew, R. A.; Perlmutter, P.; Smith, A. I.; Aguilar, M. I. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 811. (b) Porter, E. A.; Wang, X. F.; Lee, H. S.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *Nature*, **2000**, *404*, 565.

²⁸ (a) Seebach, D.; Abele, S.; Sifferlen, T.; Hängi, M.; Gruner, S.; Seiler, P. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2218. (b) Abele, S.; Vöggtli, K.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1539. (c) Seebach, S.; Gardiner, J. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1366.

²⁹ Per alcune *reviews* su β -peptidi, vedi: (a) Seebach, D.; Matthews, J. L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1997**, *21*, 2015. (b) Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173. (c) Gademann, K.; Hintermann, T.; Schreiber, J. V. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 905. (d) DeGrado, W. F.; Schneider, J. P.; Hamuro, Y. *J. Peptide Res.* **1999**, *54*, 206. (e) Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219.

³⁰ Seebach, D.; Overhand, M.; Kühnle, F. N. M.; Martinoni, B.; Oberer, L.; Hommel, U.; Widmer, H. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 913.

totalmente nuova di oligomeri peptidici non naturali aventi eccezionali proprietà chimiche e biologiche.³¹

Peptidi costituiti solo da β -amminoacidi formano preferenzialmente strutture ad elica.³¹ Il comportamento conformazionale di peptidi contenenti sia α - che β -amminoacidi, invece, dipende dalla natura degli amminoacidi inseriti nella catena. La sostituzione di un residuo prolinico con uno β -omoprolinico accresce la flessibilità della catena peptidica.³² In piccoli peptidi lineari, invece, l'inserimento di β -amminoacidi non altera l'intera conformazione del *backbone* peptidico.³³

I β -amminoacidi inseriti all'interno di peptidi ciclici occupano preferenzialmente la posizione ($i+1$) in β - e γ -turns, e sono definiti *pseudoturns*.^{34,33}

I β -peptidi, a differenza degli analoghi α -, si sono dimostrati stabili nei confronti di enzimi proteolitici, idrolitici³⁵ e metabolici in mammiferi,³⁶ insetti,³⁷ piante,³⁷ e, con una sola eccezione, anche in microorganismi³⁸ e solo raramente sono state riscontrate attività antibiotiche o emolitiche.³⁹

³¹ (a) Seebach, D.; Beck, A. K.; Bierbaum, D. J. *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 1111. (b) Seebach, D.; Beck, A. K.; Bierbaum, D. J. *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*.

³² Malêšević, M.; Majer, Z.; Vass, E.; Huber, T.; Strijkowski, U.; Hollósi, M.; Sewald, N. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2006**, *12*, 165.

³³ Rossi, F.; Bucci, E.; Isernia, C.; Saviano, M.; Iacovino, R.; Romanelli, A.; Di Lello, P.; Grimaldi, M.; Monteserchio, D.; De Napoli, L.; Piccailli, G.; Benedetti, E. *Biopolymers* **2000**, *53*, 140.

³⁴ Schumann, F.; Müller, A.; Kokschi, M.; Müller, G.; Sewald, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12009.

³⁵ Disney, M. D.; Hook, D. F.; Namoto, K.; Seeberger, P. H.; Seebach, D. *Chem. Biodiversity* **2005**, *2*, 1624.

³⁶ Weiss, H. M.; Wirz, B.; Schweitzer, A.; Amstutz, R.; Rodriguez-Perez, M. I.; Andres, H.; Metz, Y.; Gardiner, J.; Seebach, D. *Chem. Biodiversity* **2007**, *4*, 1413.

³⁷ Lind, R.; Greenhow, D.; Perry, S.; Kimmerlin, T.; Seebach, D. *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 1391.

³⁸ Heck, T.; Limbach, M.; Geueke, B.; Zacharias, M.; Gardiner, J.; Kohler, H.-P.; Seebach, D. *Chem. Biodiversity* **2006**, *3*, 1325.

³⁹ Seebach, D.; Namoto, K.; Mahajan, Y. R.; Bindschädler, P.; Sustmann, R.; Kirsch, M.; Ryder, N. S.; Weiss, M.; Sauer, M.; Roth, C.; Werner, S.; Beer, H.-D.; Mundling, C.; Walde, P.; Voser, M. *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 65.

2 SINTESI STEREOSELETTIVE DI ANALOGHI PROLINICI QUATERNARI

Un gran numero di strategie sintetiche concepite per la sintesi di derivati prolinici α -sostituiti prevedono l' α -funzionalizzazione delle stesse L-proline. Nella maggior parte dei casi, la formazione di uno stereocentro quaternario è ottenuta attraverso l'alchilazione degli corrispondenti enolati prolinici ad opera di agenti elettrofilici.

Alcuni di questi approcci saranno di seguito descritti.^{16,40}

⁴⁰ Calaza, M. I.; Cativiela, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 3247.

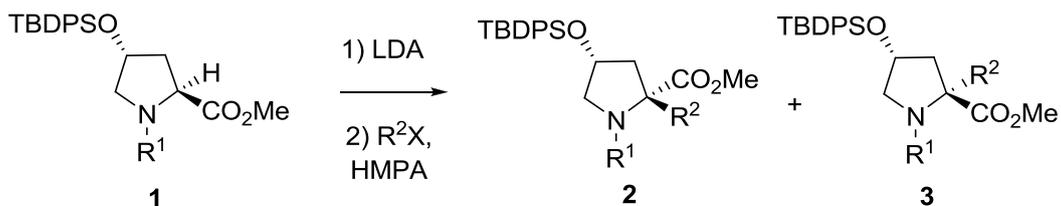
2.1 ALCHILAZIONE DIASTEREOSELETTIVA

Negli ultimi decenni sono apparsi in letteratura numerosi esempi di alchilazioni diastereoselettive effettuate su derivati esterei della L-prolina e molti sforzi sono stati spesi per spiegare i fattori che controllano la diastereoselettività del processo. In questo contesto, particolare attenzione è stata rivolta alla stereoselettività dell'alchilazione dell'enolato **4** derivato da (2*S*,4*R*)-*N*-Boc- e -*N*-benzoil-4-*t*-butildifenilsilossiprolina metilestere **1** (**Schema 1**).⁴¹

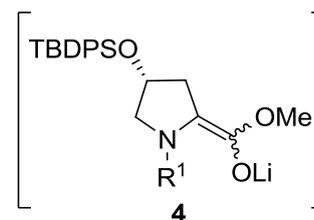
Kawahara e coll. hanno scoperto che la diastereoselettività del processo di alchilazione dipende principalmente dal reagente alchilante impiegato e dal gruppo protettore presente sull'azoto prolinico.^{41b}

Mentre è stata osservata ritenzione di configurazione nei casi di alchilazione con alogenuri allilici o omoallilici sui derivati protetti come *N*-Boc, l'uso di alogenuri benzilici ha portato preferenzialmente a prodotti con inversione di configurazione. Nel caso di derivati *N*-benzoilici, invece, l'alchilazione avviene con inversione di configurazione quando sono impiegati alogenuri benzilici o allilici e, nel caso di alogenuri benzilici, i prodotti sono ottenuti con un'alta diastereoselettività. (**Schema 1**).

⁴¹ (a) Sato, T.; Kugo, Y.; Nakaumi, E.; Ishibashi, H.; Ikeda, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 1801. (b) Nagumo, S.; Mizukami, M.; Akutsu, N.; Nishida, A.; Kawahara, N. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3209.



R ² X	R ¹	Resa (%)	Rapporto 2/3
CH ₂ =CHCH ₂ Br	2-Br-C ₆ H ₄ CO	96	46:54 ^a
BnCl	Boc	74	71:29
BnBr	Boc	95	70:30
BnBr	C ₆ H ₅ CO	66	>95:5
4-MeO-C ₆ H ₄ CH ₂ Cl	Boc	83	66:34
4-MeO-C ₆ H ₄ CH ₂ Cl	C ₆ H ₅ CO	56	>95:5
CH ₂ =CHCH ₂ Br	Boc	78	40:60
CH ₂ =CHCH ₂ Br	C ₆ H ₅ CO	69	77:23
MeI	Boc	77	23:77
CH ₂ =CHCH ₂ CH ₂ I	Boc	74	27:73
CH ₂ =CHCH ₂ CH ₂ I	C ₆ H ₅ CO	14	37:63



a: TBDMS come gruppo protettore; LHMDs come base

Schema 1

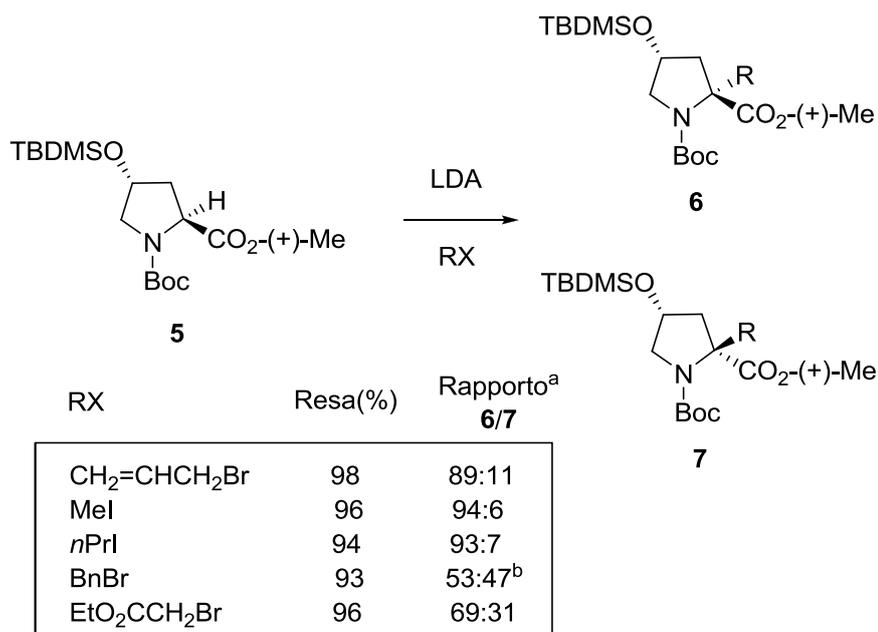
Successivamente, nel 2001, Sato e coll. hanno mostrato che la distereoselettività nel processo di alchilazione di esteri di *N*-Boc-4-(*t*-butildimetilsililossi)proline è maggiore nei casi di metil esteri (**Schema 2**).⁴² In questo caso è stato osservato come l'ingombro sterico del gruppo estereo sia il fattore predominante per l'incremento della selettività della reazione piuttosto che la configurazione dell'ausiliare chirale impiegato.

L'alchilazione diastereoselettiva di proline 4-idrossi sostituite è stata impiegata per la preparazione di nuovi oligomeri β-peptidici⁴³ e per la sintesi di prodotti naturali biologicamente attivi, tra cui diversi alcaloidi.⁴⁴

⁴² Sato, T.; Kawasaki, S.; Oda, N.; Yagi, S.; El Bialy, S. A. A.; Uenishi, J.; Yamauchi, M.; Ikeda, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2001**, 2623.

⁴³ Huck, B. R.; Gellman, S. H. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3353.

⁴⁴ (a) Cossy, J.; Mirguet, O.; Pardo, D. G. *Synlett* **2001**, 1575. (b) Tamura, O.; Yanagimachi, T.; Ishibashi, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 3033. (c) Nagumo, S.; Matoba, A.; Ishii, Y.; Yamaguchi, S.; Akutsu, N.; Nishijima, H.; Nishida, A.; Kawahara, N. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9871.



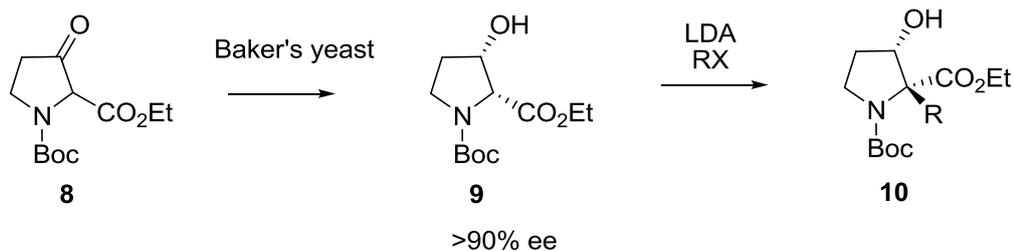
a: Determinato sul corrispondente alcool ottenuto per riduzione con LiAlH₄

b: Stereochimica non determinata

Schema 2

Un'utile procedura per la sintesi di derivati α -alchil- β -idrossiprolinici **10** prevede una riduzione enzimatica di (2*R*,3*S*)-*N*-Boc-3-idrossiprolina etilestere **8**, seguita da un'alchilazione sul derivato ottenuto **9** con differenti agenti elettrofilici. E' stato osservato che questa alchilazione avviene con ritenzione di configurazione, con rese da moderate a buone, e con un'eccellente diastereoselettività (Schema 3).⁴⁵

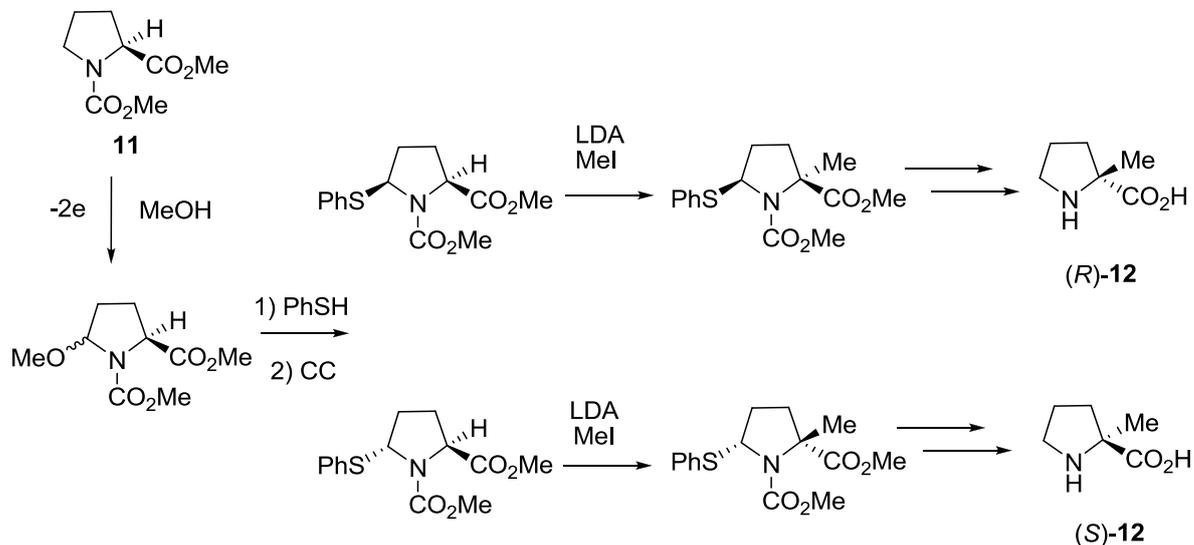
⁴⁵ Williams, R. M.; Cao, J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5441.



RX	Resa 10 (%)
(TBDMSOCH ₂)(Me)C=CHCH ₂ I	70
MeC=CHCH ₂ I	73
BnBr	53
Mel	57
Br(CH ₂) ₄ Br	49

Schema 3

Matsumura e coll. hanno descritto una strategia sintetica per la preparazione di entrambi gli enantiomeri della α -metilprolina **12**. Questa prevede l'introduzione di un gruppo metossi per via elettrochimica sull'*N*-metossicarbonil-L-prolina metil estere **11**, seguita da una sua sostituzione con un gruppo tiofenile e separazione per via cromatografica dei diastereoisomeri ottenuti. La successiva α -metilazione e rimozione per via riduttiva del gruppo tiofenile ha portato all'ottenimento di entrambi gli enantiomeri della α -metilprolina (S)- e (R)-**12** (Schema 4).⁴⁶



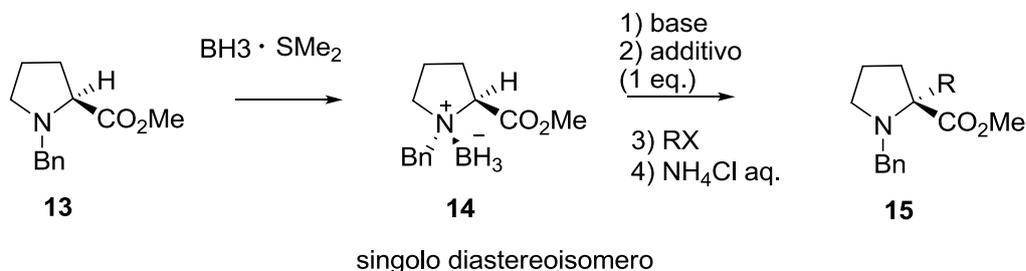
Schema 4

Mioskowski e coll. hanno riportato la sintesi asimmetrica di derivati α -alchilprolinici **15** mediante una procedura che coinvolge successivi trasferimenti di chiralità attraverso la formazione

⁴⁶ Matsumura, Y.; Kinoshita, T.; Yanagihara, Y.; Kanemoto, N.; Watanabe, M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8395.

dell'addotto chirale borano-ammina **14**, preparato come singolo isomero dalla L-prolina protetta **13** (Schema 5).⁴⁷

Ottimi risultati sono stati ottenuti nei casi in cui l'enolato sia ottenuto per trattamento con LDA seguito da un *quench* con HMPA oppure per trattamento con KHMDS in presenza dell'additivo *18-crown-6*.



RX	Base	Additivo	ee 15 (%)
Bnl	LDA	HMPA ^a	88
Bnl	KHMDS	18-crown-6	80
MeOTf ^b	KHMDS	18-crown-6	88 ^{c,d}
CH ₃ (CH ₂) ₄ OTf	KHMDS	18-crown-6	92 ^d
2,5-(MeO) ₂ -C ₆ H ₃ CH ₂ I	KHMDS	18-crown-6	91 ^d

a: 3 equiv.; b: 44% ee se viene usato MeI; c: precisione ca.5%;
d: configurazione assoluta non determinata

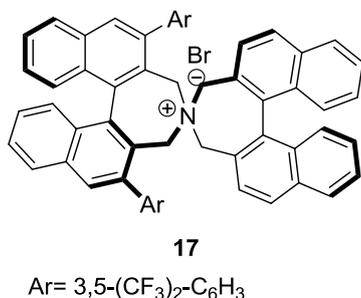
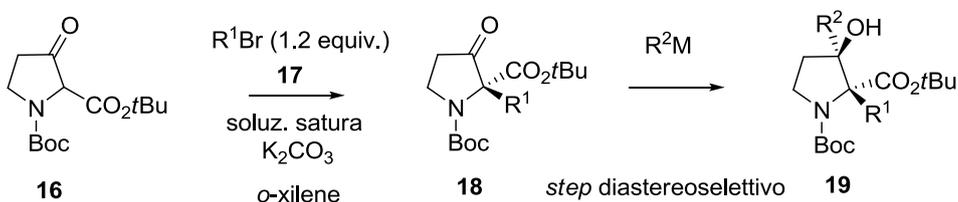
Schema 5

⁴⁷ Ferey, V.; Vedrenne, P.; Toupet, L.; Le Gall, T.; Mioskowski, C. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7244.

2.2 ALCHILAZIONE IN CONDIZIONE DI TRASFERIMENTO DI FASE CATALITICO

Nel 2005 Maruoka e coll. hanno riportato un approccio per la preparazione di alcune 3-ossoproline quaternarie otticamente attive basato sull'alchilazione altamente enantioselettiva con catalizzatori a trasferimento di fase, di α -ammino β -chetoesteri **16** racemi (Schema 6).⁴⁸

La formazione dello stereocentro quaternario è stata ottenuta con l'ausilio del catalizzatore sale d'ammonio **17** chirale a simmetria C_2 , che, insieme all'utilizzo come solvente dell'*o*-xilene incrementa notevolmente la velocità della reazione. La successiva alchilazione ad opera di agenti di Grignard avviene selettivamente sul gruppo 3-chetocarbonilico, e porta all'ottenimento di proline α -sostituite **19** caratterizzate dalla presenza di due centri quaternari adiacenti a stereochimica definita.



R ¹ Br	17 (mol %)	Resa ^a (%)	ee ^a (%)
	1	94	95
	1	99	94
	1	94	93
	1	85	95
	1	84	90
	1	92	89

a: Resa e ee calcolata per il composto **18**

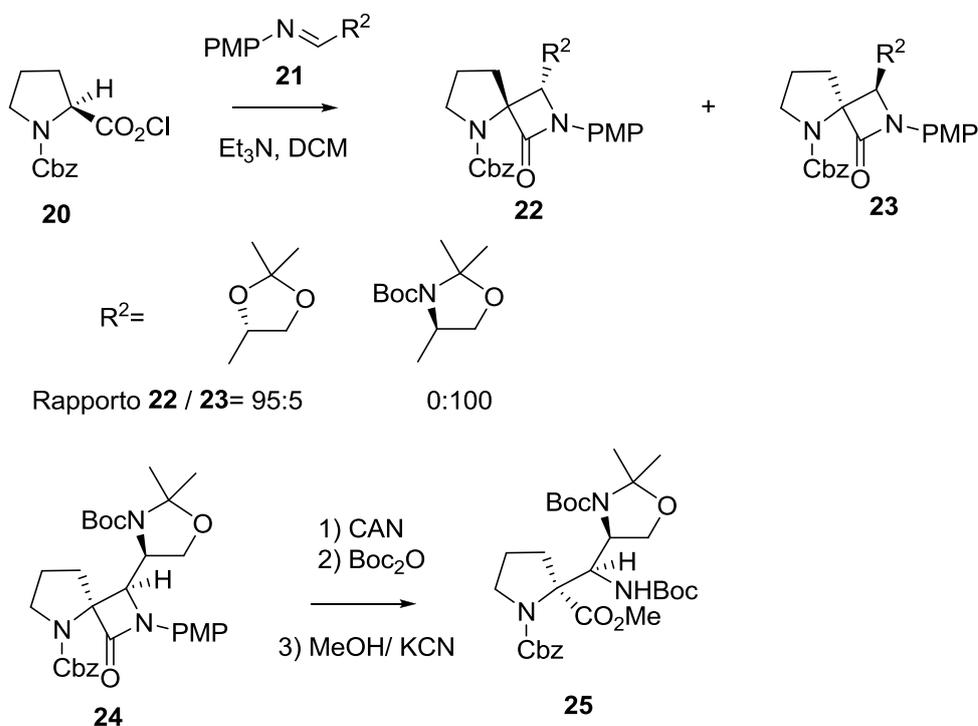
Schema 6

⁴⁸ Ooi, T.; Miki, T.; Maruoka, K. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 191.

2.3 CICLOADDIZIONI [2+2] DI CHETENI CICLICI CON IMMINE

L'apertura nucleofila dell'anello negli spiro β -lattami di tipo **22** è stata descritta da González come una nuova metodologia per la sintesi asimmetrica di proline modificate. I β -lattami **22** e **23** sono stati ottenuti per cicloaddizione [2+2] tra cheteni ciclici, generati *in situ*, e immine otticamente attive **21** (Schema 7).⁴⁹

La cicloaddizione [2+2] avviene con completa stereoselettività per dare i desiderati spiro β -lattami aventi i sostituenti sull'atomo di carbonio imminico e sull'azoto prolinico con stereochimica relativa *cis* e con un'eccellente induzione asimmetrica. In particolare l'impiego di **24** come prodotto di partenza fornisce un accesso a α -(1-amminoalchil)proline **25** enantiomericamente pure e ortogonalmente protette.

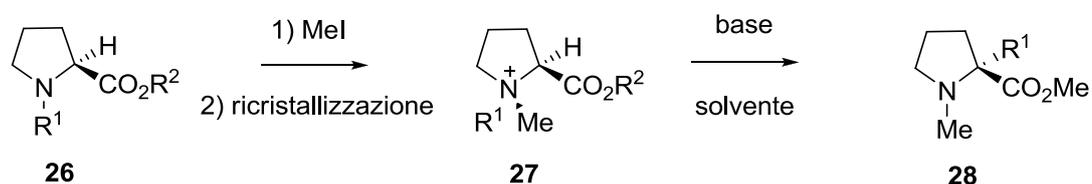


Schema 7

⁴⁹ (a) Macías, A.; Ramallal, A. M.; Alonso, E.; del Pozo, C.; González J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7721. (b) Macías, A.; Alonso, E.; del Pozo, C.; Venturini, A.; González, J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7004.

2.4 TRASFERIMENTO DI CHIRALITA' ATTRAVERSO LA FORMAZIONE DI ILIDI D'AMMONIO CICLICHE

E' stato dimostrato che i sali d'ammonio dei derivati (*S*)-*N*-Benzilprolinici **27**, in condizioni bifasiche solido-liquido, prendono parte a trasposizioni [1,2] di Stevens, con un elevato trasferimento di chiralità dall'atomo di N a quello di C, per ottenere, con alta enantioselettività, derivati α -benzilprolinici **28** (Schema 8).⁵⁰ E' stato ipotizzato dagli autori che la trasposizione avvenga con un meccanismo di rottura e ricombinazione radicalica.



R ¹	R ²	Base	Solvente	Resa 28 (%)	ee (%)
Bn	Me	<i>t</i> BuOK ^a	THF	73	54
Bn	<i>t</i> Bu	<i>t</i> BuOK ^a	THF	80	72
Bn	<i>t</i> Bu	CsOH ^b	Cl(CH ₂) ₂ Cl	73	92
4-Me-C ₆ H ₄ CH ₂	<i>t</i> Bu	CsOH ^b	Cl(CH ₂) ₂ Cl	77	84
4-MeO-C ₆ H ₄ CH ₂	<i>t</i> Bu	CsOH ^b	Cl(CH ₂) ₂ Cl	56	86
4-F-C ₆ H ₄ CH ₂	<i>t</i> Bu	CsOH ^b	Cl(CH ₂) ₂ Cl	69	90
4-(<i>t</i> BuO ₂ C)-C ₆ H ₄ CH ₂	<i>t</i> Bu	CsOH ^b	Cl(CH ₂) ₂ Cl	42 ^c	>99

a: usati 1.5 equiv.; b: usati 5 equiv.;

c: *terz*-Butil-*p*-toluato isolato con una resa del 55%

Schema 8

⁵⁰ Tayama, E.; Nanbara, S.; Nakai, T. *Chem. Lett.* **2006**, *35*, 478.

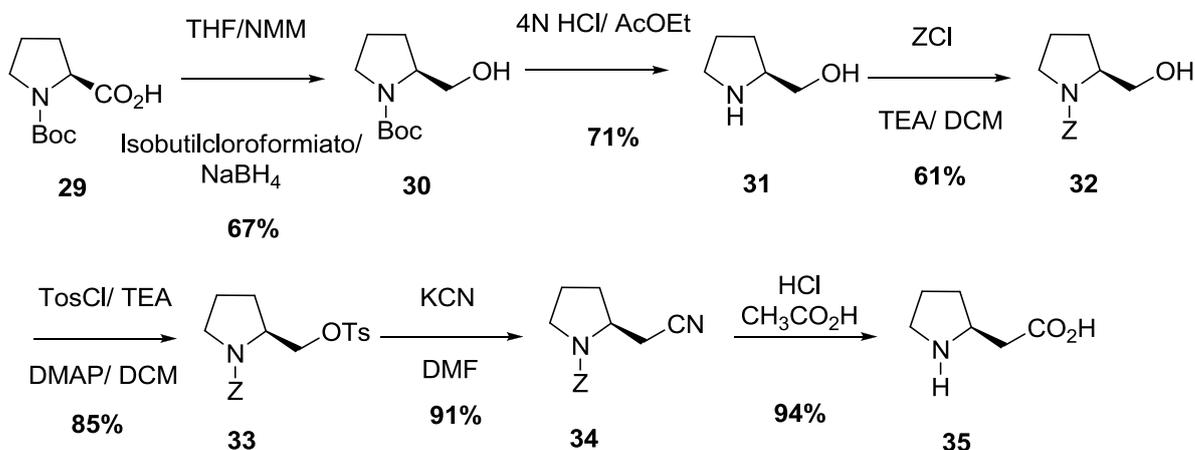
3 SINTESI DI DERIVATI OMOPROLINICI

Nonostante derivati omoprolinici stiano raccogliendo sempre maggiore interesse come intermedi chiave in chimica organica e per la loro utilità all'interno di numerosi composti biologicamente attivi, in letteratura sono presenti soltanto pochi metodi per la sintesi asimmetrica di omoprolina e suoi derivati ciclici. In seguito ne saranno citati alcuni.

Nel 2008, Katarzyńska e coll. hanno riportato la sintesi di (*S*)- β^3 -omoprolina **35** con una procedura sintetica descritta nello **Schema 9**.⁵¹

L'intermedio Boc-prolinolo **30** è stato ottenuto per riduzione della Boc-*S*-Prolina **29** usando anidride mista (isobutilcloroformiato) con sodioboroidruro. La successiva deprotezione del gruppo Boc ha portato alla formazione del prolinolo idrocloruro **31** che poi è stato convertito nel suo *Z*-derivato **32**.

Il gruppo idrossilico è stato quindi convertito nel corrispondente tosilato **33** che, a sua volta, è stato sostituito da un gruppo nitrile per dare il derivato *N*-*Z*-pirrolidilacetoneitrile **34** con un'eccellente resa (91%). Nel passaggio successivo, in seguito ad idrolisi acida, avviene la contemporanea *Z*-deprotezione e idrolisi del ciano gruppo ed è stata ottenuta la (*S*)-omoprolina **35** con una purezza enantiomerica del 98%.



Schema 9

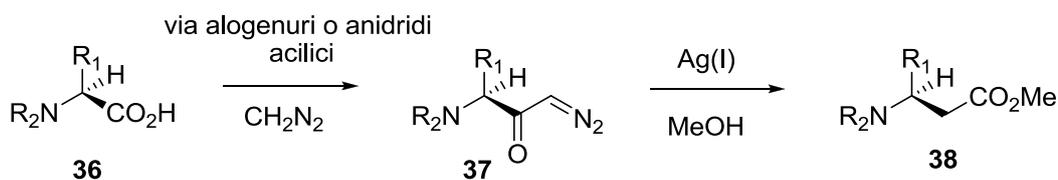
⁵¹ Katarzyńska, J.; Mazur, A.; Bilka, M.; Adamek, E.; Zimecki, M.; Jankowski, S.; Zabrocki, J. *J. Pept. Sci.* **2008**, 1283.

Un differente metodo prevede la diretta omologazione di α -amminoacidi **36** o esteri analoghi **39**, facilmente disponibili in forma enantiopura, per ottenere i β -amminoacidi omologhi **38** (Schema 10).⁵²

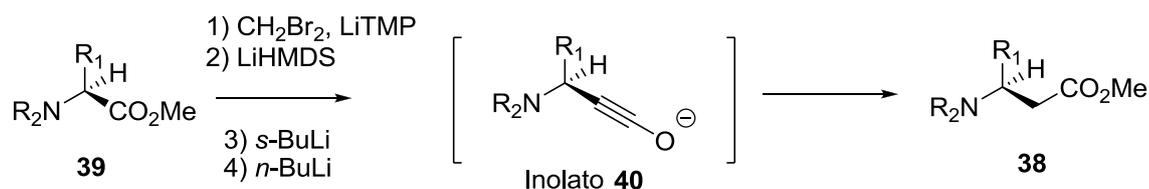
La procedura di omologazione è basata principalmente sulla sintesi di Arndt-Eistert. Questa metodologia, ampiamente utilizzata, richiede la presenza nell'ambiente di reazione di diazometano in quantità stechiometrica e la formazione, e la loro successiva trasposizione catalizzata da sali di Ag(I), dei diazochetoni intermedi **37**.⁵³ Purtroppo queste condizioni sperimentali riducono l'applicabilità di questo metodo per processi su larga scala.

Alcuni anni fa, Kowalski riportò un approccio concettualmente diverso per l'omologazione di esteri che vede come intermedio chiave un'inolato **40**.⁵⁴ L'utilizzo di un'estere come prodotto di partenza non richiede alcuna attivazione, nè il coinvolgimento del diazometano e diazochetoni intermedi. Purtroppo questa procedura non può essere applicata a proline Boc-protette

Sintesi di Arndt-Eistert



Procedura di Kowalski



⁵² Gray, D.; Concellón, C.; Gallagher, T. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4849.

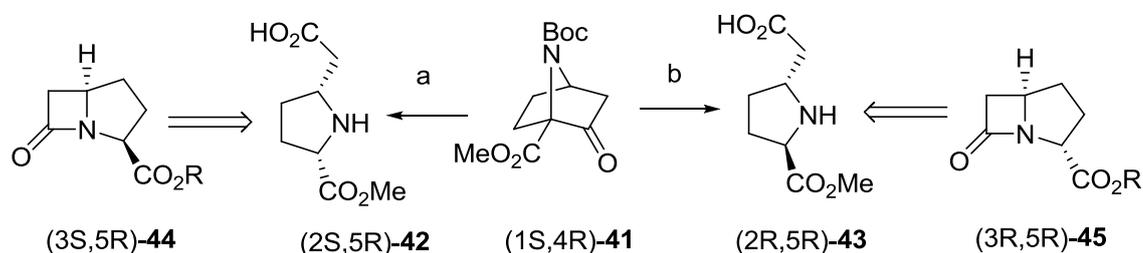
⁵³ (a) Ye, T.; McKervey, M. A. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1091. (b) Matthews, J. L.; Braun, C.; Guibourdenche, C.; Overhand, M.; Seebach, D. In *Enantioselective Synthesis of α -Amino Acids*; Juaristi, E., Ed.; Wiley-VCH: New York, **1997**, 105.

⁵⁴ (a) Kowalski, C. J.; Reddy, R. E. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7194. (b) Kowalski, C. J.; Lal, G. S. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2463. (c) Kowalski, C. J.; Lal, G. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5356. (d) Kowalski, C. J.; Haque, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1325. (e) Kowalski, C. J.; Lal, G. S.; Haque, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7127. (f) Kowalski, C. J.; Haque, M. S.; Fields, K. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 1429. (g) Kowalski, C. J.; Haque, M. S. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5140. Shindo, M. *Synthesis* **2003**, 2275. (h) Shindo, M. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 367.

Schema 10: Confronto tra i protocolli di omologazione di α -amminoacidi o esteri proposti da Arndt-Eistert e Kowalski

La reazione di retro-Dieckmann si è dimostrata un'utile strumento sintetico stereodivergente applicato a esteri di acidi *N*-Boc-7-azabicyclo[2.2.1]eptan-2-onecarbossilici **41** per ottenere, in differenti condizioni di reazione, metil esteri enantiopuri di acidi *trans*- and *cis*-5-(carbossimetil)pirrolidin-2-carbossilici **43** e **42** (Schema 11).⁵⁵

Queste pirrolidine disostituite sono state usate, poi, come prodotti di partenza nella sintesi di tutti e 4 i possibili stereoisomeri dei metilesteri degli acidi carbapenam-3-carbossilici **44** e **45**.



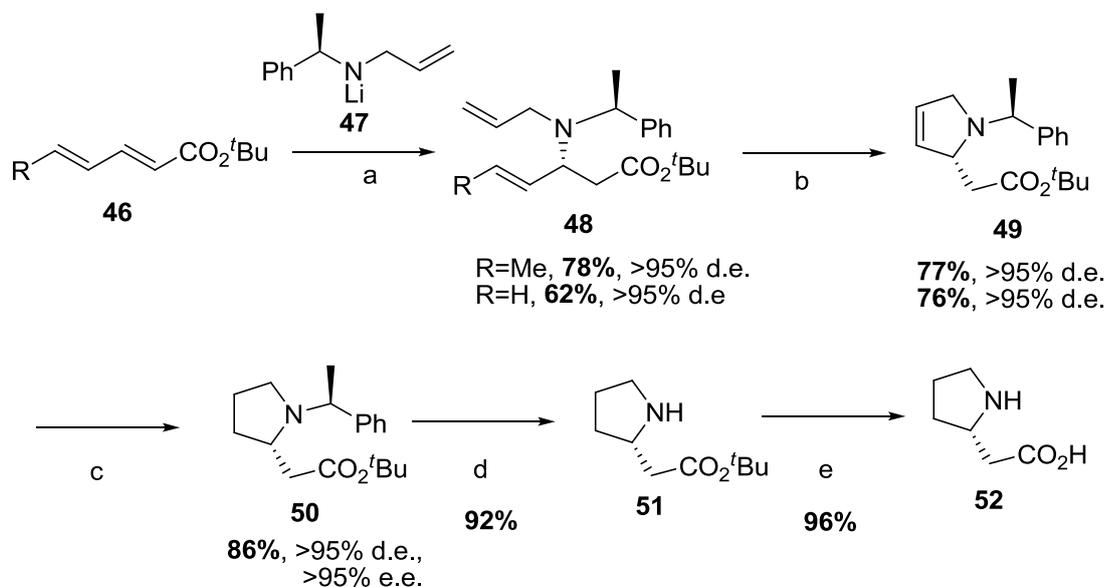
Schema 11: Reazione di retro-Dieckmann

Reagenti e condizioni di reazione: a) LiOH·H₂O, ^tPrOH/ H₂O, -30 °C, 100%; b) NMe₄OH·5H₂O, THF, t.a., 67%

Una strategia proposta da Davies e coll. nel 200⁵⁶ prevede l'addizione coniugata diastereoselettiva di litio (*S*)-*N*-allil-*N*- α -metilbenzilammide **47** a esteri α,β -insaturi **46** seguita da *ring closing metathesis* per ottenere, con buone rese e ottimi eccessi enantiomerici, β -amminoacidi eterociclici tra cui la (*S*)-omoprolina **52** (Schema 12).

⁵⁵ Avenoza, A.; Barriobero, J. I.; Busto, J. H.; Peregrina, J. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2889.

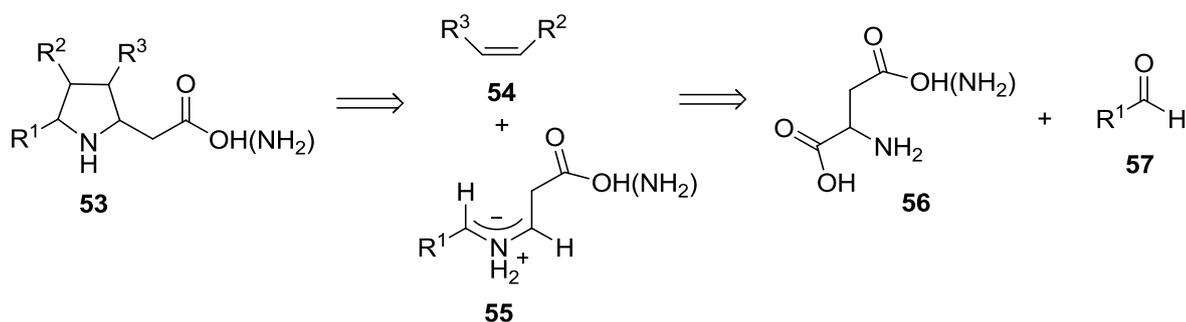
⁵⁶ Chippindale, A. M.; Davies, S. G.; Iwamoto, K.; Parkin, R. M.; Smethurst, A. P.; Smith, A. D.; Rodriguez-Solla, H. *Tetrahedron* **2003**, 3253.



Schema 12: Sequenza di addizione coniugata-ring closing metathesis per la sintesi della (*S*)-omoprolina **52**.

Reagenti e condizioni: a) THF, -78 °C. b) 4mol.% RuCl₂(=CHPh)(PCy₃)₂, DCM, Δ, 12h. c) (PPh₃)₃RhCl, H₂ (2 atm), MeCN, ta. d) Pd(OH)₂ su C, H₂ (1 atm), MeOH-H₂O-AcOH (40:4:1), ta. e) HCl acq. e dopo Dowex 50WX8-200.

Un'altra interessante procedura sintetica, proposta nel 2005 da Kudryavtsev e coll.⁵⁷ porta alla sintesi di analoghi omoprolinici polisostituiti **53** mediante condensazione di aldeidi ariliche o eteroariliche **57**, acido aspartico o asparagina **56** e dipolarofili **54** (**Schema 13**). L'approccio proposto permette di ottenere omoproline con sostituenti arilici(eteroarilici) in posizione 5 sull'anello pirrolidinico con una procedura che possiede tutti i vantaggi propri delle reazioni multicomponenti, ossia semplicità e disponibilità dei prodotti di partenza.



Schema 13: Schema retrosintetico per la sintesi di omoproline **53** mediante generazione di 1,3-dipoli per decarbossilazione e loro reazione di cicloaddizione con dipolarofili. Condizioni: DMF, 120 °C, 3-4 h, rese 21-31% calcolate per l'isomero maggioritario.

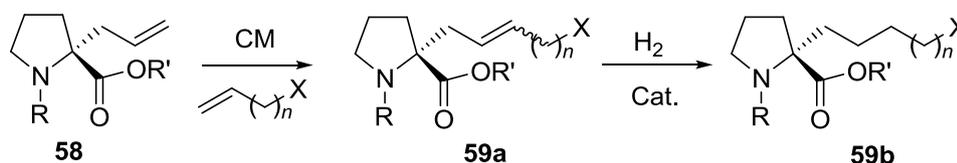
⁵⁷ Kudryavtsev, K.; Irkha, V. V. *Molecules* **2005**, *10*, 755.

4 SINTESI DI PROLINE α -SOSTITUITE
ATTRAVERSO REAZIONI DI *CROSS-*
METATHESIS

4.1 INTRODUZIONE

Derivati prolinici α -sostituiti^{16b} mostrano importanti attività biologiche,²¹ inoltre α -alchil proline sono risultate alquanto utili come prodotti di partenza nella sintesi di prodotti naturali⁵⁸ e come *probes* per strutture polimeriche.⁵⁹ Dato il potenziale ruolo biologico di questo tipo di amminoacidi α,α -disostituiti ed il loro possibile impiego in molti campi della scienza,²⁰ nel nostro gruppo di ricerca è stata posta particolare attenzione nella sintesi di librerie di proline 2-sostituite enantiomericamente pure, impiegando comuni *building blocks* facilmente funzionalizzabili.

Una possibile strategia sintetica per ottenere proline 2-sostituite **59** consiste nell'utilizzare come prodotto di partenza un derivato opportunamente protetto della 2-allil-L-prolina **58** avente un residuo allilico in posizione 2 che può essere ulteriormente modificato, per esempio attraverso reazioni di "Cross Metatesi" (CM) (Schema 14).



Schema 14

Questo processo sintetico, versatile ed elegante, permette di partire da un unico precursore e di introdurre una funzionalizzazione nella catena laterale dell'amminoacido prodotto attraverso l'utilizzo di semplici alcheni variamente funzionalizzati. Nel caso della sintesi di amminoacidi **59b** contenenti una catena lipofila (lipoamminoacidi) degno di nota è il fatto che la catena è direttamente legata all'anello pirrolidinico della proline con un legame C-C non idrolizzabile dalle proteasi. Di norma, nei lipopeptidi sintetici più ricorrenti in letteratura, invece, l'introduzione della catena lipidica avviene attraverso lipidazione (ad esempio miristoilazione o palmitoilazione) di gruppi -OH, -NH₂ o -SH delle catene laterali degli amminoacidi.⁶

⁵⁸ (a) Isono, N.; Mori, M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 115. (b) Williams, R. M.; Glinka, T.; Kwast, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5927

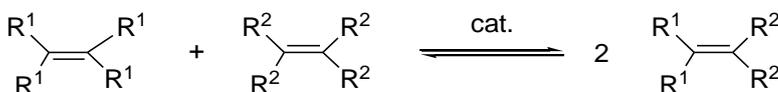
⁵⁹ Overberger, C. G.; Jon, Y. S. *J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed.* **1977**, *15*, 1413.

La versatilità del gruppo allilico risiede nella possibilità di allungare la catena sfruttando la reazione di CM tra la prolina **58** e alcheni lineari di diversa lunghezza e variamente funzionalizzati.^{60,61}

Scoperta accidentalmente durante studi sulla polimerizzazione di Ziegler, la reazione di metatesi olefinica è divenuta uno dei principali mezzi di formazione e scissione di nuovi legami C-C in condizioni blande.^{62,63,64} Risulta evidente il sempre maggiore interesse verso questa via sintetica anche dal fatto che Yves Chauvin, Robert H. Grubbs e Richard R. Schrock nel 2005 hanno vinto il premio Nobel per la chimica per i loro studi sullo “sviluppo dei metodi di metatesi nella sintesi organica”.

La metatesi di alcheni può essere considerata formalmente come uno scambio di unità alchilideniche, attraverso la rottura e la formazione di doppi legami indotta da un catalizzatore del tipo metallocarbene.

Un semplice schema della reazione è rappresentato nello **schema 15**:



Schema 15: Metatesi di alcheni

⁶⁰ Per CM su α -amminoacidi α -sostituiti vedi: (a) Storcken, R. P. M.; Panella, L.; Van Delft, F. L.; Kaptein, B.; Broxterman, Q. B.; Schoemaker, H. E.; Rutjes, F. P. J. T. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 161. (b) Andrei, D.; Wnuk, S. F. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5093. (c) Dondoni, A.; Giovannini, P. P.; Perrone, D. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5508. (d) Nolen, E. G.; Kurish, A. J.; Potter, J. M.; Donahue, L. A.; Orlando, M. D. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3383. (e) Xie, W.; Zou, B.; Pei, D.; Ma, D. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2775. (f) Schmidtmann, F. W.; Benedum, T. E.; McGarvey, G. J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4677. (g) Boyle, T. P.; Bremner, J. B.; Coates, J. A.; Keller, P. A.; Pyne, S. G. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7271. (h) J. Elaridi, W. R. Jackson, A. J. Robinson, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2025; (i) Vernall, A. J.; Abell, A. D. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2555. (j) Nolen, E. G.; Kurish, A. J.; Wong, K. A.; Orlando, M. D. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2449. (k) McGarvey, G. J.; Benedum, T. E.; Schmidtmann, F. W. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3591. (l) Biswas, K.; Coltart, D. M.; Danishefsky, S. J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6107. (m) Biagini, S. C. G.; Gibson, S. E.; Keen, S. P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 2485.

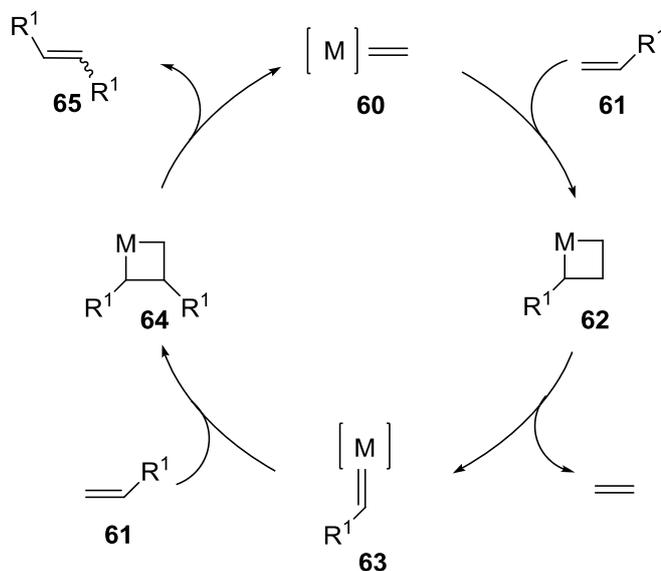
⁶¹ Per CM su α -amminoacidi O- o N-sostituiti, vedi: (a) Morris, T.; Sandham, D.; Caddick, S. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1025. (b) Enholm, E.; Low, T. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2272. (c) Streuff, J.; Nieger, M.; Muniz, K. *Chemistry Eur. J.* **2006**, *12*, 4362. (d) Poulsen, A.; Bornaghi, L. F.; *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7389. (e) McNaughton, B. R.; Bucholtz, K. M.; Camaano-Moure, A.; Miller, B. L. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 733.

⁶² Grubbs, R. H. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117.

⁶³ Connon, S. J.; Blechert, S. *Topics Organomet. Chem.* **2004**, *11*, 93.

⁶⁴ Connon S. J.; Blechert, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1900.

Il meccanismo della catalisi fu proposto da Chauvin⁶⁵ nel 1970 (**Schema 16**) ed è stato in seguito ampiamente dimostrato.



Schema 16: Meccanismo della metatesi di olefine proposto da Chauvin.

Il complesso metallo-metilene (metallo di transizione-carbene) **60** reagisce con il substrato olefinico **61** formando un intermedio metalla-ciclobutano **62** che, successivamente, si decompone in etilene ed un nuovo metallo-alchilidene **63** attraverso una sequenza di cicloadizione e retrocicloadizione [2+2] formali. L'etilene che si libera contiene un atomo di carbonio del metilene del catalizzatore **60** ed uno dell'olefina di partenza **61**. Il nuovo complesso **63** può reagire con un'altra molecola di alchene **61** formando un nuovo metallaciclobutano **64** da cui si ottiene l'alchene finale **65** ed il complesso **60** che può rientrare nel ciclo. In generale il processo è reversibile, ma la formazione di etilene gassoso permette di spostare l'equilibrio verso la formazione di **65**.

La versione intramolecolare della reazione porta alla formazione di prodotti ciclici attraverso la *ring-closing metathesis* (RCM), mentre il processo intermolecolare è detto *cross-metathesis* (CM).

Partendo dai semplici catalizzatori di Natta (WCl_6 ed Et_3Al) sono state sviluppate strutture catalitiche sempre più stabili e/o efficienti. Negli anni '70 ed '80 il gruppo di Schrock preparò un'intera famiglia di complessi Mo- e W-alchilidene e, contemporaneamente ad Hoveyda, anche catalizzatori chirali per la realizzazione di metatesi stereoselettive.

⁶⁵ Hérisson, J. L.; Chauvin, Y. *Makromol. Chem.* **1970**, *141*, 161.

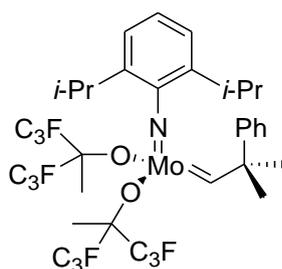


Fig. 2: Catalizzatore di Schrock (1990).

Dagli anni '80 in poi, Grubbs e coll. per avere catalizzatori sempre più efficienti per questo tipo di reazioni hanno lavorato sui complessi carbenici del rutenio. Questi complessi hanno il vantaggio, rispetto a quelli di Mo, di essere stabili verso l'ossigeno, l'acqua e altre impurezze comunemente presenti nei solventi e di essere compatibili verso molti gruppi funzionali come ad esempio acidi, alcol e aldeidi. Le sole eccezioni di gruppi funzionali incompatibili degni di nota sono le ammine, i tioesteri e le fosfine.^{62,63, 66} Sono qui di seguito riportate le strutture di alcuni catalizzatori di Grubbs attualmente disponibili in commercio:

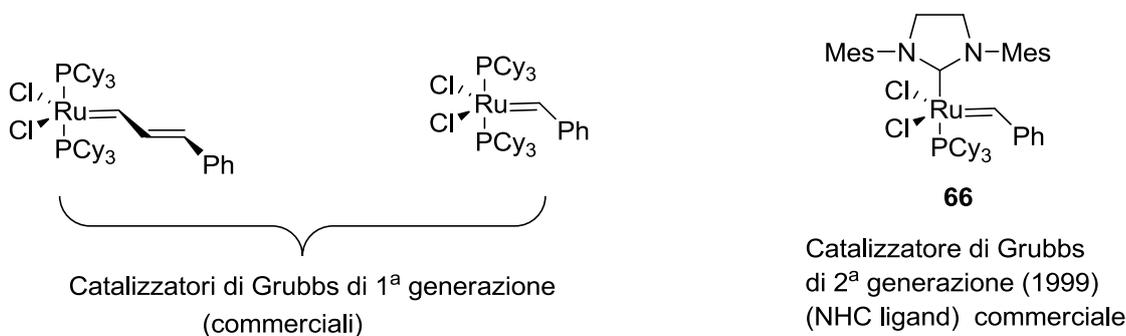


Figura 3: Catalizzatori di Grubbs

La CM ha avuto fino ad ora un uso limitato in quanto presenta scarsa selettività nell'ottenimento dell'eterodimero di 2 olefine. Si ottengono spesso miscele di olefine simmetriche e non simmetriche difficilmente separabili (**Schema 17**). La reazione risulta ulteriormente complicata

⁶⁶ (a) Grubbs, R. H. *Handbook of Metathesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**. (b) Hoveyda, A. H.; Zhugralin, A. R. *Nature* **2007**, *450*, 243. (c) Schrodi, Y.; Pederson, L. R. *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 45.

per problemi di stereoselettività in quanto si possono ottenere entrambi gli isomeri *E/Z*. Tuttavia, con i catalizzatori NHC di seconda generazione un certo numero di olefine altamente funzionalizzate hanno mostrato di poter dare reazioni di CM selettive. Recentemente, un lavoro di R. H. Grubbs e coll.⁶⁷ ha suggerito delle linee guida qualitative che permettono di prevedere se la formazione di un eterodimero possa avvenire con rese soddisfacenti e in qualche caso anche il valore orientativo del rapporto fra gli isomeri *E/Z*.

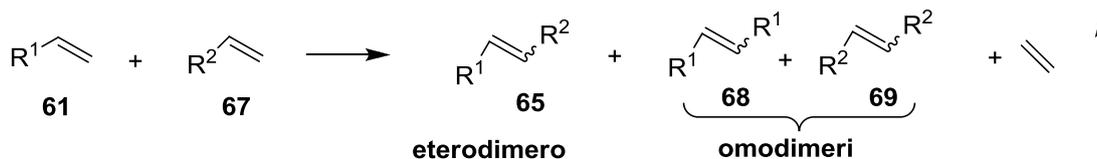
Gli autori hanno classificato le olefine in quattro tipi, in base alla loro capacità di dare omodimerizzazione attraverso CM e alla suscettibilità degli omodimeri formati, verso reazioni di metatesi successive:

- I. **Olefine di tipo I:** danno rapida omodimerizzazione e gli omodimeri formati danno reazioni di metatesi secondarie.
- II. **Olefine di tipo II:** danno lenta omodimerizzazione e gli omodimeri sono scarsamente reattivi.
- III. **Olefine di tipo III:** essenzialmente incapaci di dare omodimerizzazione, ma possono reagire con olefine di tipo I e II.
- IV. **Olefine di tipo IV:** non partecipano a reazioni di CM.

E' possibile ottenere CM selettive utilizzando due olefine di tipo differente, ossia con velocità di dimerizzazione significativamente differenti e/o più lente rispetto alla formazione del prodotto incrociato desiderato. Mentre la semplice modificazione di fattori sterici o elettronici di un'olefina (ad esempio con l'uso di opportuni gruppi protettori) è spesso sufficiente per cambiarne la reattività, per aumentare la selettività è anche importante la scelta di un catalizzatore con differente attività, per es. sostituendo ai catalizzatori di Grubbs di 1^a generazione il catalizzatore di 2^a generazione **66**.

Volendo applicare la reazione di metatesi su 2-allilproline protette per allungare la catena in posizione α è stato necessario considerare attentamente se questi substrati fossero adatti ad una reazione di CM per dare prevalentemente l'eterodimero.

⁶⁷ Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360.



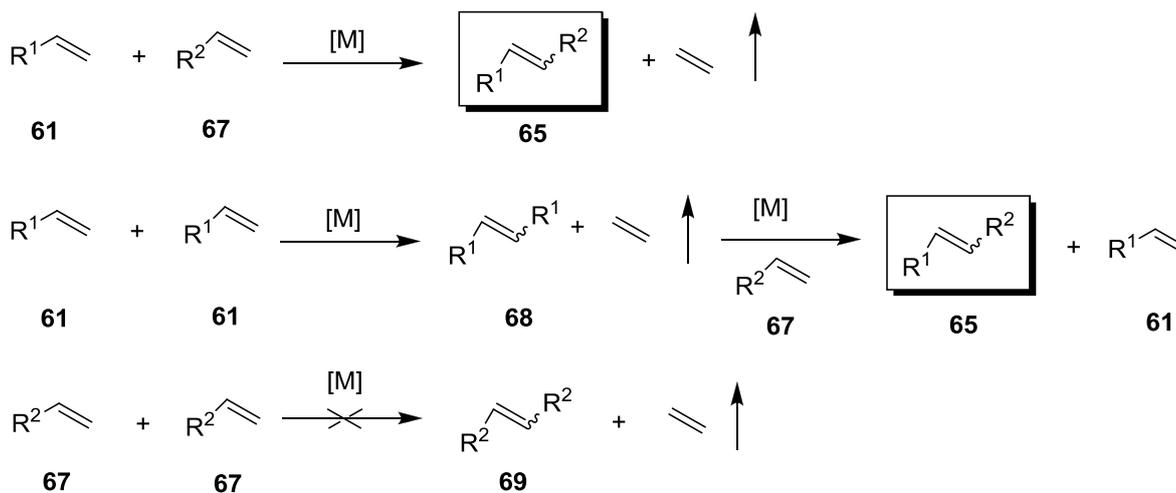
Schema 17: etero *cross*-metatesi

Se osserviamo la struttura della prolina allil-sostituita **58** si può notare come questa molecola possa rientrare nella categoria di olefina con un sostituito ingombrante in posizione allilica (olefina di tipo III ristretta al catalizzatore **66**). Vi erano, dunque, fondate speranze che facendo reagire il composto **58** con un'olefina terminale (olefina di tipo I) si formasse l'eterodimero voluto.

Nei primi studi sulle reazioni di metatesi con i catalizzatori di Grubbs di 1^a generazione risultò che olefine completamente sostituite in posizione allilica non partecipavano a reazioni di CM.

La notevole attività del catalizzatore di Grubbs di 2^a generazione **66** rende invece possibile il processo e sfrutta l'ingombro sterico per aumentare la selettività di substrato. Infine la stabilità del prodotto di CM sfavorisce la formazione di prodotti delle reazioni secondarie di metatesi.

In questi casi l'uso di un eccesso dell'olefina **61** che omodimerizza più facilmente è in grado di accelerare convenientemente la reazione di formazione dell'eterodimero **65** come illustrato nello **schema 18**:



Schema 18: Metatesi tra olefine **61** di tipo I e olefine **67** di tipo III

In questo progetto sono stati effettuati studi di allungamento della catena tramite CM sulle allilproline protette **70** e **71** enantiomericamente pure, utilizzando alcheni variamente funzionalizzati.

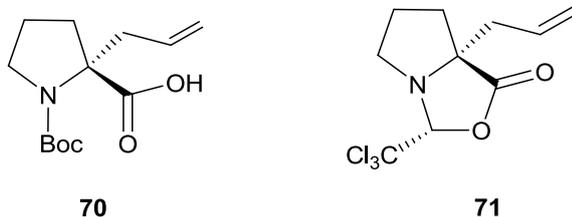


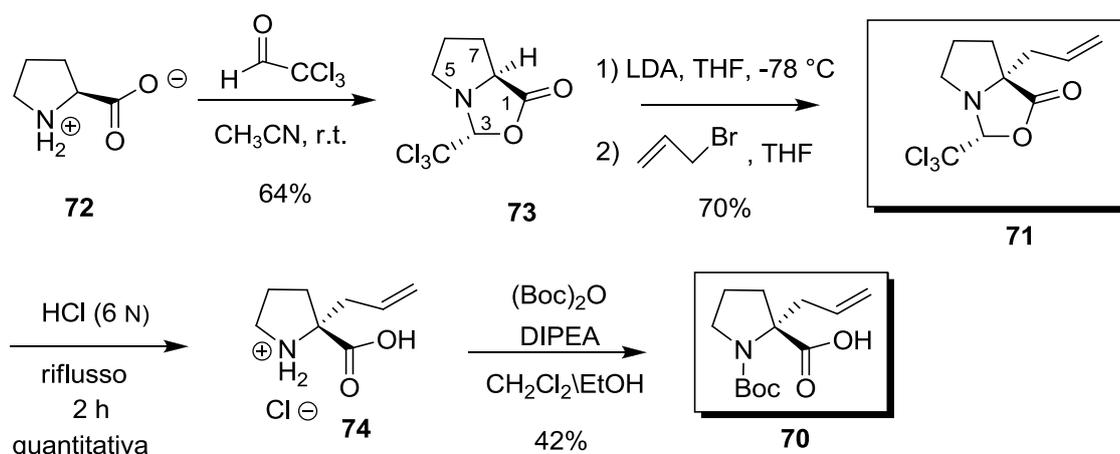
Figura 3

Entrambi i composti **70** e **71** hanno un atomo di carbonio tetrasostituito legato al gruppo allilico (olefine di tipo III) e il gruppo amminico protetto.

4.2 SINTESI DEI SUBSTRATI PER LA REAZIONE DI METATESI

4.2.1 SINTESI DI (3R,7aR)-7A-ALLIL-3-(TRICLOROMETIL)TETRAIDRO-1H-PIRROLO[1,2-c][1,3]OSSAZOL-1-ONE (**71**) e 2-ALLIL-1-(T-BUTOSSICARBONIL)-1-PROLINA (**70**)

Le allil proline protette **70** e **71** sono state ottenute a partire dall'amminoacido naturale L-prolina (**72**) commercialmente disponibile, seguendo la procedura descritta da Genin e Johnson (**Schema 19**).⁶⁸

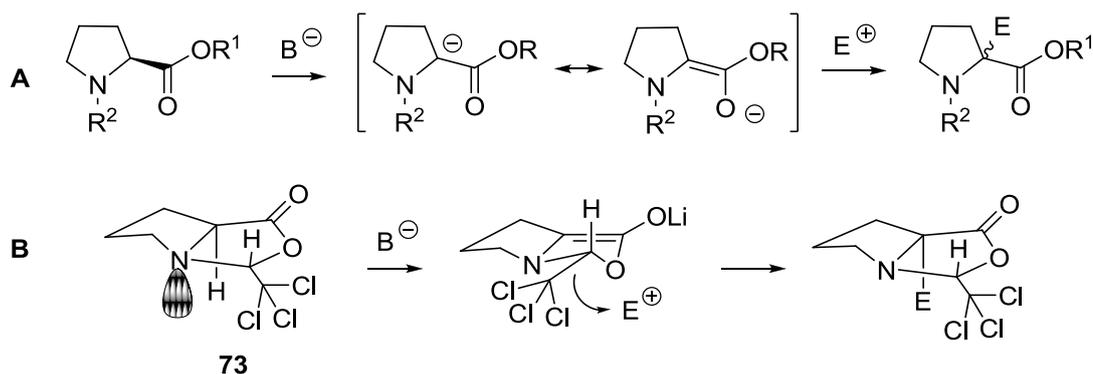


Schema 19

L'intero processo consiste in una sostituzione nucleofila dell'enolato della prolina con completa ritenzione di configurazione sull'atomo C-2 attraverso la strategia dell'auto-rigenerazione del centro stereogenico (*self-regeneration of stereogenic center*)⁶⁹ Infatti l'alchilazione diretta della prolina porta alla formazione di composti racemici, perché durante l'enolizzazione si perde l'informazione stereochimica (**Schema 20A**).

⁶⁸ Genin, M. J.; Johnson, R. L. *J. Am. Chem.* **1992**, *114*, 8778.

⁶⁹ Seebach, D.; Boes, M.; Naef, R.; Schweizer, W. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5390.



Schema 20

Invece, la creazione di un *N,O*-acetale tipo **73** permette di proteggere contemporaneamente le funzioni amminica e carbossilica e di creare un nuovo centro stereogenico temporaneo che guidi la stereochimica dell'alchilazione. L'ossazolidinone **73** si forma con alta diastereoselettività ($dr > 95\%$)⁷⁰ con il gruppo CCl_3 sulla faccia *exo* del sistema biciclico, in relazione *cis* con l'atomo di idrogeno a testa di ponte. L'enolato corrispondente possiede quindi un centro stereogenico capace di indurre l'attacco dell'elettrofilo sulla faccia *Re* con formazione del prodotto con il gruppo CCl_3 e il nuovo sostituente sul C-7a sulla faccia *exo* del sistema biciclico (**Schema 20B**). La rimozione del gruppo protettore permette poi di ottenere proline 2-sostituite con un alto grado di purezza ottica.

Il 2-triclorometilossazolidinone **73** è stato ottenuto con resa del 64% per condensazione di un eccesso di clorale con L-prolina (**72**) in CH_3CN .⁷⁰

La rimozione del protone 7a-H è stata effettuata con litio diisopropilammide (LDA) in THF a -78°C in condizioni anidre. La successiva aggiunta di allilbromuro all'enolato ottenuto ha portato alla formazione del prodotto **71** (resa: 70%) con il gruppo allilico in relazione *cis* con gruppo triclorometile.

L' α -allil prolina **70** è disponibile commercialmente (Fluka®) oppure può essere sintetizzata partendo dall'allilossazolidinone **71** idrolizzando la funzione *N,O*-acetale in condizioni acide (HCl 6N a riflusso per 2 ore) per ottenere il cloridrato dell'amminoacido libero **74** con resa quantitativa. Poiché i gruppi amminici liberi interferiscono con i catalizzatori di Ru usati nella reazione di metatesi, è stato necessario proteggere l'ammina secondaria. Come gruppo protettore

⁷⁰ Wang, H.; Germanas, J. P. *Synlett*. **1999**, 1, 33.

è stato scelto il *t*-butilossicarbonile (Boc) che è stato introdotto per trattamento di **74** con (Boc)₂O in presenza di un eccesso di DIPEA.

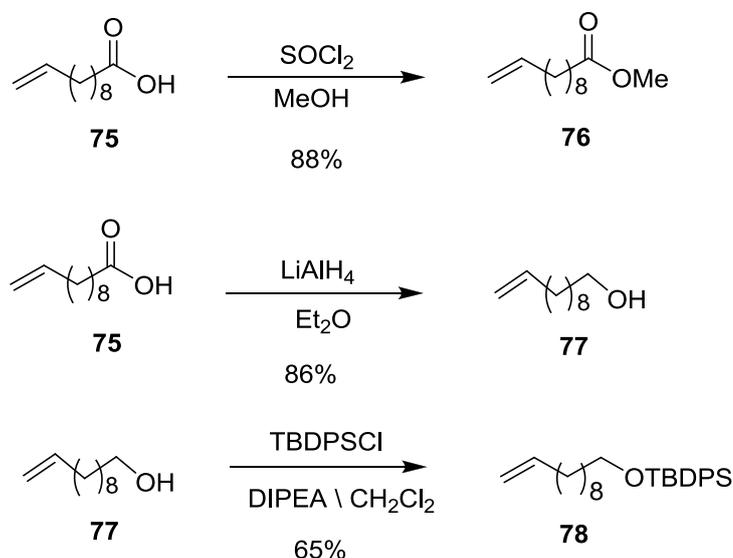
La (*R*)-2-allilprolina **70** è stata ottenuta con una resa del 42% rispetto a **71**. La stessa resa è stata ottenuta utilizzando come base il tetrametilammonio idrossido (TMAH) secondo la procedura riportata da Khalil e colleghi.⁷¹

⁷¹ Khalil, E. M.; Subasinghe N. L.; Johnson, R. L. *Tetrahedron Letters* **1996**, 37, 3441.

4.2.2 SINTESI DI ALCENI FUNZIONALIZZATI

Per effettuare lo studio della CM sui derivati delle allilproline **70** e **71** abbiamo deciso di utilizzare alcheni modello commercialmente disponibili come l'1-eptene (**85**) e l'1-dodecene (**87**) e composti funzionalizzati ottenibili a partire dall'acido 1-undecenoico (**75**) attraverso semplici trasformazioni. In particolare, la funzione carbossilica è stata facilmente convertita nei gruppi: estereo ed alcolico (protetto e non). Il nostro obiettivo era studiare le condizioni ottimali per ottenere una libreria di lipoproline che, una volta inserite in opportune sequenze peptidiche, mimassero la struttura dei lipopeptidi più comuni.

La reazione di CM è stata condotta anche sul derivato del glucosio **84** per ottenere lipoglicoproline, composti capaci di interagire più selettivamente con i recettori. L'ottenimento di una libreria di derivati lipoprolinici in modo semplice e sfruttando una reazione versatile come la CM, è stato incentivato anche dal fatto che tali composti non sono ancora noti in letteratura pur presentando una potenziale applicabilità nella sintesi di composti biologicamente attivi.



Schema 21

I derivati **76**, **77**, e **78** sono stati sintetizzati attraverso reazioni classiche a partire dall'acido **75** (**Schema 21**). L'esterificazione dell'acido undecenoico **75** è stata fatta tramite formazione *in situ*

del cloruro acilico con SOCl_2 in atmosfera di N_2 e successiva esterificazione con metanolo anidro. L'estere **76** è stato ottenuto con resa dell'88%.⁷²

Tramite riduzione con un eccesso di LiAlH_4 , in ambiente anidro, dall'acido **75** è stato ottenuto il corrispondente alcol **77** con una resa dell'86%.⁷³

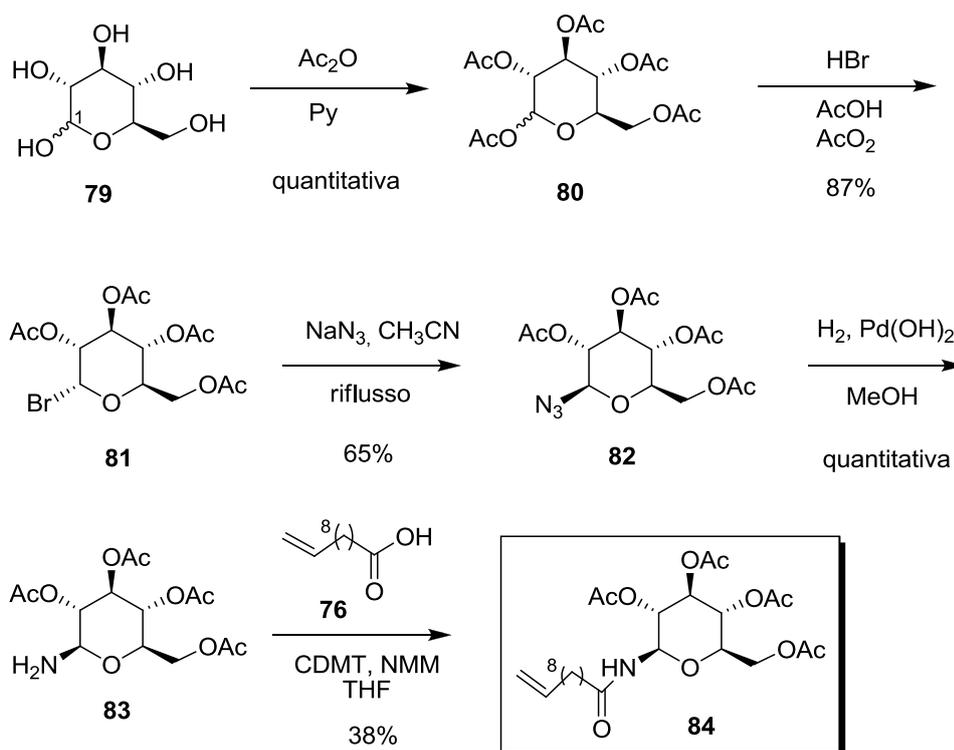
La protezione della funzione alcolica con TBDPSCl in ambiente anidro in presenza di DIPEA come base ha portato al corrispondente sililetere **78** con una resa del 65%.

⁷² Santos, L. S.; Pilli R. A.; Rawall, V. H. *J. Org. Chem.* **1287**, 69, 1283.

⁷³ Matsushita, M.; Kanemura, T.; Hatakeyama, S.; Irie, H.; Toki T.; Miyashita, M. *Tetrahedron* **1995**, 51, 10687.

4.2.3 SINTESI DEL DERIVATO GLICOSIDICO 84

L'acetilglucosammina **83** è stata sintetizzata a partire dal glucosio (**79**) con una serie di passaggi noti in letteratura ^{74, 75, 76} e poi è stata *N*-acilata con l'acido undecenoico **75** per ottenere la corrispondente olefina glicosilata **84** (Schema 22).



Schema 22

Il glucosio (**79**), commercialmente disponibile come miscela di α - e β -anomeri, è stato peracetilato con Ac_2O in piridina per ottenere ancora una miscela di α - e β -anomeri dell'acetilglucosio **80** con resa quantitativa. Per confronto con i segnali $^1\text{H-NMR}$ degli atomi 1-H dei singoli anomeri isolati ($\delta = 6.33$ ppm, d, $J = 0.37$ Hz per l'anomero α ; $\delta = 5.71$ ppm, d, $J = 8.1$

⁷⁴ Scheurer, P. G.; Smith, F. J. *Am. Chem. Soc.* **1994**, *76*, 3224.

⁷⁵ Allevi, P.; Anastasia, M.; Ciuffreda, P. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7313.

⁷⁶ Pitt, N.; Duane, R. M.; O'Brien, A.; Bradley, H.; Wilson, S. J.; O'Boyle, K. M.; Murphy, P. V. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1873.

Hz per l'anomero β) è possibile determinare il rapporto tra i due, che risulta essere di 3.4:1 in favore dell'anomero β .

Per successivo trattamento del composto **80** con HBr in AcOH e Ac₂O in atmosfera di N₂ si ottiene l' α -D-glucopiranosil bromuro **81** con una resa dell' 87%. In questo caso si ottiene prevalentemente l'anomero α , più stabile in forma cristallina per effetto anomeric.

Successivamente il derivato **81** è stato trattato con NaN₃ in CH₃CN a riflusso in ambiente anidro per ottenere, con inversione di configurazione sul centro anomeric, la β -D-glucopiranosilazide **83** attraverso un meccanismo di tipo S_N2.⁷⁷

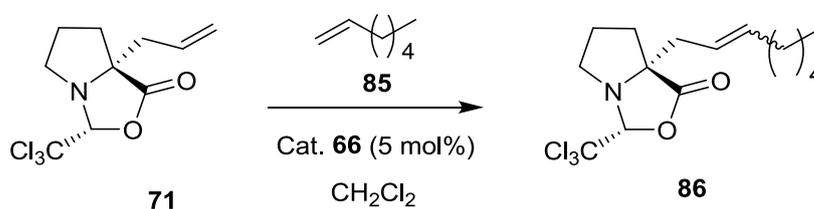
E' stato possibile verificare, tramite NMR, che la configurazione del carbonio anomeric del composto **82** è di tipo β . L'azide **82** è stata poi idrogenata in MeOH utilizzando come catalizzatore il Pd(OH)₂/C per ottenere con resa quantitativa la β -D-glucopiranosilammia **83**. Tramite *coupling* del prodotto **83** con l'acido undecenoico **75** si è formato un legame ammidico tra l'ammino zucchero e la funzione acida dell'olefina. Precedenti studi hanno mostrato come la 1-cloro-3,5-dimetossitriazina (CDMT) in combinazione con l'*N*-metilmorfolina (NMM) sia un'efficiente attivante per questo tipo di *coupling*, specialmente con substrati stericamente ingombrati.^{78, 79} Nel nostro caso la glucosilammide **84** è stata ottenuta con una resa del 38%.

⁷⁷ (a) Szarek, W. A.; Achmatowicz, Jr. O.; Plenkiewicz, J.; Radatus, B. K. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1427. (b) Esteves, A. P.; Rodrigues, L. M.; Silva, M. E.; Gupta, S.; Oliveira-Campoça, A. M. F.; Machalickyb, O.; Mendonça, A. J. *Tetrahedron* **2005**, *62*, 8625.

⁷⁸ Hipskind, P. A.; Howbert, J. J.; Cho, S.; Cronin, J. S.; Fort, S. L.; Ginah, F. O.; Hansen, G. J.; Huff, B. E.; Lobb, K. L.; Martinelli, M. J.; Murray, A. R.; Nixon, J. A.; Staszak M. A.; Copp, J. D. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7033.

⁷⁹ Kaminnski, Z. J.; Paneth, P.; Rudzinski, J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4248.

4.3 STUDI SULLA REAZIONE DI CROSS-METATESI



Schema 23

La metatesi di olefine è diventata negli ultimi anni uno dei metodi più utili ed eleganti in chimica organica per poter ottenere olefine complesse a partire da semplici precursori alchenilici.

Per poter applicare questa strategia sintetica ai nostri substrati in maniera riproducibile è risultato necessario ottimizzarne le condizioni sperimentali conducendo uno studio metodologico preliminare. Come già accennato, infatti, la reazione presenta spesso una bassa selettività nella formazione di prodotti di omo- ed eterodimerizzazione ed uno scarso controllo della stereochimica del nuovo doppio legame formato. Lo studio è stato condotto sulla reazione di CM tra la proline **71** e l'1-eptene (**85**) (Schema 23). Le migliori condizioni trovate sono state successivamente utilizzate per le altre reazioni di *cross*-metatesi fra i derivati prolinici **70** e **71** e le olefine scelte per la costruzione della libreria di lipoproline.

L'1-eptene (**85**) è stato scelto come alchene modello perché commercialmente disponibile a basso costo, di media lunghezza, senza gruppi funzionali che potessero interferire nella reazione in esame e relativamente volatile (p. eb. $94\text{ }^\circ\text{C}$) e per questo facilmente allontanabile dalle miscele di reazione per distillazione a pressione ridotta.

In linea di principio, la selettività nella reazione di CM può essere controllata utilizzando olefine in cui risulti sfavorito il processo di omodimerizzazione rispetto al processo di eterodimerizzazione. Benché sia difficile valutare esattamente i fattori sterici ed elettronici che determinano la reattività dei diversi substrati olefinici, è possibile osservare la propensione di un alchene verso il processo di omodimerizzazione rispetto a quello di eterodimerizzazione e la conseguente reattività dell'eventuale omodimero formato.

Precedenti lavori^{67, 80, 81} hanno mostrato, ad esempio, come un'appropriata scelta del catalizzatore possa portare ad una migliore selettività nei prodotti a parità di olefine reagenti. Il catalizzatore di Grubbs di seconda generazione **66**, essendo meno reattivo rispetto, ad esempio, a quello al Mo di Schrock, permette di differenziare maggiormente la reattività delle olefine che presentano determinate caratteristiche strutturali ed elettroniche. Come è stato già discusso nell'introduzione di questo lavoro, le olefine possono essere suddivise in tre categorie in base alla loro propensione a omodimerizzare. Per evitare una distribuzione statistica dei prodotti è necessario che le due olefine appartengano a differenti categorie in modo che le loro velocità di dimerizzazione siano significativamente differenti.

L'allilprolina **71**, a causa dell'ingombro sterico in posizione allilica, può essere classificata come un'olefina di tipo III, ossia dovrebbe omodimerizzare molto lentamente e dare degli eterodimeri non suscettibili di reazioni di CM secondarie.

Inoltre la resa dell'eterodimero può essere aumentata giocando sul rapporto tra gli equivalenti di olefine reagenti impiegate. Infatti, studi sperimentali su reazioni di CM tra olefine con carboni allilici quaternari ed olefine α -sostituite hanno mostrato come la resa possa variare dal 50% al 95% utilizzando rispettivamente rapporti dei reagenti di 1:1 e 20:1.⁶⁷

Nel nostro caso, aumentando il numero di equivalenti di 1-eptene (**85**) (olefina di tipo I), rispetto all'allilprolina **71**, è logico aspettarsi che siano maggiormente favoriti il processo di eterodimerizzazione e il processo di omodimerizzazione dell'eptene.

La reazione è stata studiata su una miscela equimolare e su una miscela 1:2 di allilprolina **71** e di 1-eptene (**85**). Tutte le reazioni in seguito commentate sono state condotte in presenza di 5 mol% del catalizzatore **66** usando diclorometano come solvente (**Tab. 1**). Come atteso, in tutti i casi esaminati è stata verificata l'assenza del prodotto di dimerizzazione dell'allilprolina **71**, la presenza dell'omodimero dell'eptene e del prodotto desiderato **87** ed è stato provato che l'uso di una maggiore quantità di 1-eptene (**85**), a parità delle altre condizioni sperimentali (**Tab. 1**, reazioni **b**, **c** e **d**, **e**), incrementa la resa. Probabilmente l'eptene **85** inizialmente dimerizza con facilità, ma il prodotto ottenuto va incontro a reazioni di metatesi secondarie dando alla fine l'eterodimero **86**, che invece è stabile nelle condizioni di reazione. Per questo motivo è risultato ininfluente ai fini

⁸⁰ Thiel, O. R. *Metals for Organic Synthesis* **2004**, 1, 321.

⁸¹ Fürstner, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3012.

della selettività del processo l'ordine di aggiunta dei reagenti. Tutte le reazioni, ad eccezione di **c**, sono state condotte in condizioni non anidre, utilizzando reagente e solvente *reagent grade* (purezza dell'1-eptene (**85**) 97%, purezza diclorometano maggiore del 98%), grazie alla nota tolleranza del catalizzatore di Grubbs verso acqua, ossigeno ed altre impurezze che possono essere presenti nei solventi.⁸¹

Dal confronto tra i risultati ottenuti con il metodo **c** e gli altri metodi **b**, **d** ed **e** è stato verificato come la presenza di un ambiente anidro non porti ad effettive variazioni sulle rese delle reazioni.

Il prodotto di metatesi **86** è stato sempre ottenuto come miscela dei due diastereoisomeri *E* e *Z* non separabili tramite cromatografia su gel di silice e difficilmente individuabili tramite spettroscopia ¹H-NMR. I rapporti tra gli isomeri *E* e *Z* sono stati determinati mediante spettroscopia ¹³C-NMR sulle miscele di reazione grezze per confronto tra le intensità dei segnali di atomi di carbonio corrispondenti, supponendo che presentino un analogo tempo di rilassamento. In particolare sono stati scelti i segnali relativi ai C olefinici perché assegnabili con certezza e ben visibili nello spettro ¹³C-NMR.

Quando possibile, il rapporto diastereomero è stato confermato dalla lettura dello spettro ¹H-NMR della miscela di isomeri purificata su colonna cromatografica (*flash chromatography*). Purtroppo entrambi i metodi di valutazione quantitativa risultano affetti da scarsa precisione, dato che è necessario assumere nel primo caso che i carboni considerati presentino lo stesso tempo di rilassamento, nel secondo che entrambi gli isomeri abbiano lo stesso comportamento nei confronti della tecnica di purificazione utilizzata. La geometria dell'isomero maggioritario è stata assegnata di tipo *E* sulla base dei dati ¹H-NMR ed in analogia ad altre reazioni di CM.

In generale, la stereoselettività *E/Z* è risultata modesta, tra 3.7 e 6.3:1, ma questo aspetto risulta di secondaria importanza in quanto il doppio legame deve essere ridotto alla fine del processo sintetico a dare proline funzionalizzate con catene alchiliche sature.

Naturalmente, anche in questo caso, la scelta del catalizzatore, piccoli cambiamenti apportati sui substrati, e variazioni delle condizioni sperimentali (in primo luogo la temperatura) possono influire sulla selettività *E/Z*.

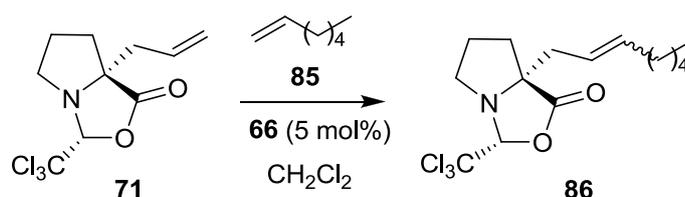
In base ai risultati ottenuti (**Tab. 1**) si osserva come le variazioni di condizioni sperimentali da noi apportate (temperatura, metodo di riscaldamento e rapporto equivalenti dei reagenti) non

contribuiscono in modo sostanziale a cambiamenti nei rapporti tra gli isomeri ottenuti. I valori ottenuti sulle miscele grezze sono sempre tra 4.4 e 6:1 (**Tab. 1**, reazioni **b**, **d**, **e**).

Per quanto riguarda la temperatura richiesta dal processo, inizialmente la reazione di CM è stata condotta a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata fatta reagire per 10 giorni sotto agitazione magnetica e monitorata periodicamente via TLC (**Tab. 1**, reazione **a**). Dopo questo periodo di tempo, però, è stata ancora riscontrata la presenza di allilprolina **71** nell'ambiente di reazione. Probabilmente questo è dovuto ad una decomposizione del catalizzatore che non ha permesso il completamento della reazione. (**Tab. 1**, reazione **a**).

Scaldando la miscela a riflusso di diclorometano (ca 40 °C), la reazione procede invece in 2 h con una resa del 61% e un rapporto diastereomerico del 6.3:1 se sono impiegati 2 equivalenti di olefina **85**. Utilizzando solo 1 equivalente di olefina **85**, invece, la reazione procede in 2 h con una resa del 53% e un rapporto diastereomerico del 4.8:1 (**Tab. 1**, reazioni **b** e **c**).

Tab. 1: prove di CM tra l'allilprolina **71** e l'1-eptene (**85**) in varie condizioni di reazione.



	rapporto 71/85	condizioni di reazione ^a	resa ^b (%)	rapporto ^c <i>E/Z</i>
a	1:1	rt, 10 d	- ^c	3.7:1
b	1:1	riflusso, 2 h	53	4.8:1
c	1:2	riflusso, 2 h	61	6.3:1 ^d
d	1:1	MW, 80 °C, 20 min	60	5:1
e	1:2	MW, 80 °C, 20 min	75	4.4:1

a) tutte le reazioni sono state condotte in CH₂Cl₂ a ta o alla temperatura di riflusso (ca 40 °C, 2 h) o sotto irraggiamento di MW (150 W, 80 °C, 20 min, metodo *instant cooling*); b) calcolata sul prodotto purificato per cromatografia; c) calcolato via ¹³C-NMR sul grezzo di reazione; d) calcolato via ¹H-NMR sul prodotto purificato; e) resa non determinata, bassa conversione.

Negli ultimi anni particolare attenzione è stata rivolta all'utilizzo delle microonde (MW) come fonte di calore alternativa. Con una fonte di riscaldamento esterno come un bagno ad acqua o ad

olio, il calore viene trasferito per conduttanza termica. L'energia trasferita dipende dalla conducibilità termica dei vari materiali e porta ad avere temperature delle pareti del recipiente più alte di quelle dell'interno della miscela di reazione. L'irraggiamento di MW invece produce un riscaldamento interno efficiente per accoppiamento diretto della radiazione con le molecole polari dei reagenti e/o del solvente, evitando fenomeni di decomposizione dovuti al contatto dei reagenti con le pareti calde del recipiente.⁸² Un certo numero di studi riguardante la metatesi, soprattutto la RCM, assistita dalle MW sono apparsi in letteratura.^{61,83} L'irraggiamento con MW ha dimostrato di poter migliorare le rese e di ridurre notevolmente i tempi di reazione (minuti comparati ad ore) nonché la degradazione termica del catalizzatore al Ru che così è più efficiente oltre che facilmente recuperabile.^{61d,84}

Tali risultati ci hanno incoraggiato ad utilizzare la tecnica di riscaldamento a MW anche sui nostri substrati. La miscela di reazione è stata scaldata nel reattore a MW a 80 °C per 20 minuti, utilizzando una potenza di 150 W e il metodo *instant cooling* (raffreddamento del reattore mediante aria compressa appena raggiunta la T massima impostata durante l'irraggiamento). Effettivamente l'uso delle MW ha ridotto i tempi di reazione (20 minuti con l'uso delle MW contro 2 ore impiegando i tradizionali metodi di riscaldamento) ed ha incrementato le rese, anche se non ha portato cambiamenti sostanziali sui rapporti diastereomerici (**Tab. 1**, reazioni **d** e **e**).

In sintesi, come riportato in **Tab. 1**, le migliori condizioni sperimentali si sono rivelate quelle della reazione **e**: due equivalenti dell'olefina a catena lunga, generalmente più economica della allilprolina **71** e riscaldamento tramite irraggiamento con MW a 80 °C.

Le stesse condizioni sperimentali, con piccole variazioni, sono state applicate alle altre reazioni di CM (capitolo 4.3).

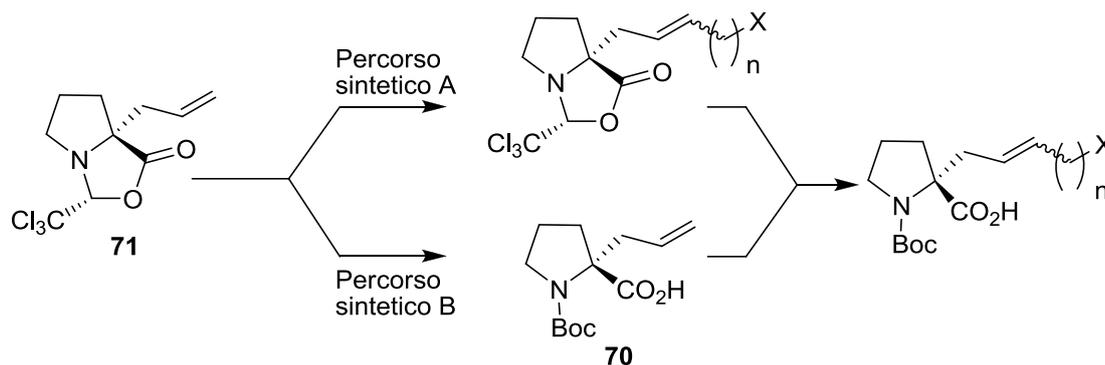
⁸² (a) Kappe, C. O.; Dallinger, D. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2006**, *5*, 51. (b) Bargiggia, F. C.; Murray, W. V. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9636.

⁸³ Salim, S. S.; Bellingham R. K.; Brown, R. C. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 800.

⁸⁴ Comer, E.; Organ, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8160.

4.4 REAZIONI DI *CROSS*-METATESI SULLE ALLIL- PROLINE 70 E 71 CON ALCENI FUNZIONALIZZATI

Per ottenere derivati prolinici recanti in posizione α catene lipofile risultano percorribili due vie sintetiche alternative partendo dalla prolina **71** ed utilizzando la strategia proposta (**Schema 24**).



Schema 24

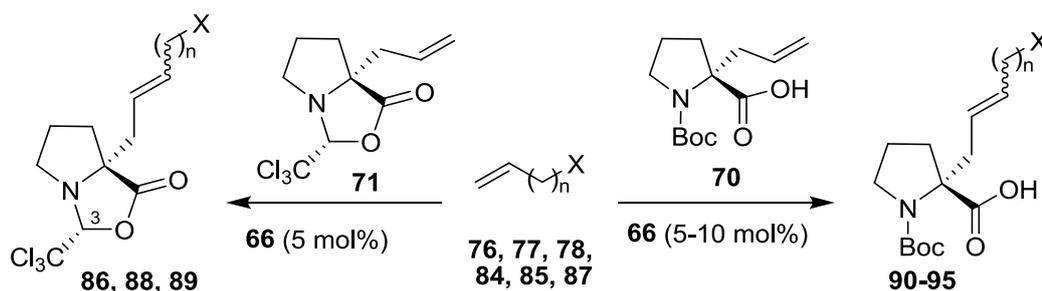
Il percorso sintetico **A** prevede di effettuare la reazione di CM direttamente sull'allilossazolidinone **71** e successivamente procedere alla rimozione del gruppo amminoacetalico e alla protezione dell'atomo di azoto con il *t*-butossicarbonile. Il percorso sintetico **B** invece consiste nel trasformare la prolina **71** nella *N*-Boc-allilprolina **70**, attraverso due passaggi sintetici di *N,O*-deprotezione ed *N*-protezione già descritti in letteratura,⁶⁸ in modo da avere uno *scaffold* 'avanzato' su cui effettuare tutte le reazioni CM per l'allungamento della catena laterale.

Inizialmente è stata investigata la via sintetica **A** utilizzando per la reazione di CM le migliori condizioni sperimentali trovate durante lo studio metodologico precedentemente descritto, ad eccezione della reazione tra **71** e **87** che è stata effettuata con riscaldamento tradizionale. I risultati ottenuti sono riassunti nella **Tab. 2**.

Riscaldando per 2 h alla temperatura di riflusso (circa 40 °C) una miscela dell'allilossazolidinone **71** con 2.1 equivalenti di 1-dodecene (**87**) e 5 mol% del catalizzatore di Grubbs **66** in CH₂Cl₂, è

stato ottenuto il tridecenilossazolidinone **88** con una resa del 58% (**Tab. 2**, reazione **b**). Anche in questo caso non è stato possibile separare i due diastereoisomeri per cromatografia su silice. Dall'analisi degli spettri $^1\text{H-NMR}$ e $^{13}\text{C-NMR}$ della miscela degli isomeri purificata, il rapporto fra gli isomeri *E:Z* risulta essere circa 4.5:1. In particolare, lo spettro $^1\text{H-NMR}$ dell'isomero maggioritario presenta un singoletto a 4.96 ppm assegnabile al 3-H, mentre il corrispondente idrogeno dell'isomero minoritario risuona come un singoletto a 4.97 ppm; il rapporto tra gli integrali di questi due segnali è 4.6:1.

Tab. 2: CM tra le allilproline **70** e **71** e gli alcheni **76**, **77**, **78**, **84**, **85** e **87**.



	X	n	alkene (equiv)	allil- prolina	66 (%)	Solvente (Conc. M)	prodotto	resa ^b (%)
a	Me	4	85 (2.0)	71	5	DCM (0.1)	86	75
b	Me	9	87 (2.1)	71	5	DCM (0.1)	88 ^c	58
c	CO ₂ Me	8	76 (1.8)	71	5	DCM (0.1)	89 ^d	57
d	Me	4	85 (7.0)	70	5	DCM (0.1)	90	92
e	Me	9	87 (7.0)	70	5	DCM (0.1)	91	86
f	CO ₂ Me	8	76 (2.0)	70	5	DCM (0.1)	92	63
g	OH	9	77 (2.0)	70	5	DCM (0.1)	93	40
h	OH	9	77 (5.0)	70	10	THF (0.5)	93 ^e	56
i	CONHGlc ^f	8	84 (2.0)	70	10	THF (0.3)	94	48
l	OTBDPS	9	78 (2.0)	70	10	DCM (0.5)	95	40

a) Tutte le reazioni, eccetto nei casi indicati, sono state condotte sotto irraggiamento di MW (150 W, 80 °C, 40 min, metodo *instant cooling*); b) calcolata sul prodotto purificato per cromatografia; c) reazione condotta alla temperatura di riflusso del DCM (ca 40°C, 2h) d) tempo di reazione 20

minuti e) temperatura della reazione 40 °C; f) H₂NGlc = 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosilammina.

Rapporti analoghi (4.4:1) sono stati riscontrati tra i segnali ¹³C dei C olefinici. Per questo substrato si ottengono rese soddisfacenti sfruttando il riscaldamento tradizionale e i rapporti diastereomerici sono paragonabili al caso precedente.

Facendo reagire l'allilossazolidinone **71** con il metilestere dell'acido undecenoico (**76**), il prodotto di metatesi **89** è stato ottenuto con una resa del 57% (**Tab. 2**, reazione **c**). La reazione è stata condotta con l'impiego di 1.8 equivalenti dell'olefina **76** e riscaldando la miscela di reazione ad una temperatura di 80 °C tramite irraggiamento con MW per 20 minuti. In questo caso la diastereoselettività *E:Z*, determinata confrontando i segnali dei C olefinici nello spettro ¹³C-NMR del grezzo di reazione è di 3.8:1. Un rapporto analogo viene osservato dal confronto del segnale del 3-H nello spettro ¹H-NMR del prodotto purificato. Nonostante sia nota la tolleranza del catalizzatore di Grubbs verso molti gruppi funzionali è possibile che in qualche modo la presenza del gruppo estereo diminuisca l'efficacia del processo catalitico portando ad una resa inferiore rispetto agli alcheni non funzionalizzati.

Tentativi di riduzione del doppio legame del tridecenilossazolidinone **88** non hanno portato alla formazione del corrispondente prodotto saturo. In effetti, per idrogenazione catalitica di **88**, sia in presenza di Pd/C che Ni-Raney, sono state ottenute miscele complesse di prodotti di decomposizione. Tale risultato può essere attribuito ad una probabile instabilità del sistema 2-(triclorometil)-1,3-ossazolidin-5-one in tali condizioni di reazione.

Sui prodotti di metatesi **86** e **88** sono state quindi effettuate alcune prove di rimozione del clorale e successiva riprotezione dell'azoto amminico. In letteratura, l'idrolisi dell'allil ossazolidinone **71** avviene in ambiente acido acquoso (HCl 6 N, riflusso, 1 h).⁷⁰ I substrati **86** e **88**, non possono essere trattati nelle stesse condizioni, perchè non sono solubili in acqua a causa della presenza della catena lipofila più lunga. E' stato quindi necessario utilizzare come co-solvente il diossano ed effettuare la reazione per tempi più lunghi (HCl 6 N/diossano 1:1, riflusso, 24 h). Anche in queste condizioni la conversione non è stata completa.

La miscela grezza del cloridrato dell'amminoacido è stata quindi trattata con di(*t*-butil)dicarbonato (Boc₂O) e un eccesso di base (DIPEA o K₂CO₃) per proteggere il gruppo amminico. In queste condizioni l'*N*-Boc-ottenilprolina **90** e l'*N*-Boc-tridecenilprolina **91** sono state ottenute con una resa complessiva sui due passaggi del 28% e del 24%, rispettivamente.

Considerate le difficoltà incontrate nel percorrere la via sintetica **A** (**Schema 22**), quali le basse rese d'idrolisi e *N*-protezione, e l'impossibilità di ridurre direttamente il doppio legame in presenza del sistema ossazolidinonico, abbiamo iniziato ad indagare il percorso sintetico **B** effettuando le reazioni di CM sullo *scaffold* avanzato *N*-Boc-allilprolina, commercialmente disponibile.

Da alcuni studi riportati in letteratura,⁸⁵ il gruppo protettore Boc risulta essere compatibile con i processi di metatesi olefinica effettuati su α -amminoacidi con il catalizzatore di Grubbs di 2^a generazione **66**. L'unico possibile inconveniente dovuto all'uso del Boc come gruppo protettore deriva dal suo notevole ingombro sterico che può rendere più difficoltoso l'avvicinamento del catalizzatore per la formazione dell'intermedio metallaciclobutanico. Comunque, l'uso di un gruppo protettore per l'azoto amminico è necessario, non solo per un eventuale utilizzo degli amminoacidi modificati in sintesi peptidica, ma anche perchè il gruppo amminico libero, capace di complessare il Ru, non è compatibile con il catalizzatore **66**. Al contrario non occorre proteggere il gruppo carbossilico che è compatibile con la reazione di CM catalizzata da **66**.

Analogamente all'allilossazolidinone **71**, anche **70** può essere considerato come un'olefina del terzo tipo secondo la classificazione di Grubbs e coll.⁶⁷ Infatti l'ingombro sterico esercitato dall'anello pirrolidinico-2-sostituito legato al C allilico dovrebbe favorire il processo di eterodimerizzazione rispetto a quello di omodimerizzazione. Anche in questo caso, la nostra ipotesi è stata confermata dall'assenza del prodotto di omodimerizzazione nella miscela di reazione di CM di **70** con vari alcheni lineari.

Sfruttando il riscaldamento tramite irraggiamento con MW (T= 80 °C, 20 min, 150 Watt, metodo *instant cooling*) la *N*-Boc-allilprolina **70** è stata fatta reagire con l'1-eptene (**85**) in presenza del catalizzatore di Grubbs **66** in CH₂Cl₂. In queste condizioni (2 eq. eptene **85** e 5% cat. di Grubbs **66**), è stato ottenuto il composto **90** con una resa del 72%. Da notare come, in condizioni analoghe, la reazione condotta sui due derivati **70** e **71** con 1-eptene (**85**) avvenga con rese paragonabili (72% e 75% rispettivamente).

Anche in questo caso abbiamo potuto osservare come un aumento degli equivalenti dell'olefina a catena lunga porti ad un notevole incremento della resa, infatti, con 7 equivalenti di 1-eptene (**85**), la resa del prodotto di *cross*-metatesi è stata del 92%. (**Tab. 2**, reazione **d**).

⁸⁵ Bigini, S. C. G.; Gibson S. E.; Keen, S. P. J. *Chem. Soc. Perkin Trans.1* **1998**, 2485.

Con l'1-dodecene (**87**), mantenendo le stesse condizioni sperimentali utilizzate nel caso precedente, la reazione di CM ha portato alla formazione del composto **91** con una resa del 86%. Data l'alta reattività delle olefine terminali verso le reazioni di CM si osserva come un allungamento della catena non porta a sostanziali variazioni sulla selettività del processo. (**Tab. 2**, reazione **e**).

L'*N*-Boc-allilprolina **70** è stata poi fatta reagire con il metilestere dell'acido 1-undecenoico (**76**). Il composto **92** è stato ottenuto nelle condizioni usuali con una resa del 63% (**Tab. 2**, reazione **f**). In questo caso non è stata riscontrata diastereoselettività. L'introduzione del gruppo estereo terminale, come precedentemente osservato per la prolina **71**, sembra sfavorire in termini di resa la reazione di CM. Questo *trend* viene confermato anche dalla reazione con l'undecenolo **77** in cui la resa del prodotto **93** risulta abbassata al 40%. (**Tab. 2**, reazione **g**) ed una precedente protezione della funzione alcolica come sililetere **78** non ha portato miglioramenti della resa del prodotto di CM (**Tab. 2**, reazione **l**).

Numerosi studi di CM, tra cui quelli effettuati da Cossy e colleghi mostrano come il gruppo ossidrilico libero sia compatibile con questo metodo sintetico.⁸⁶ È plausibile pensare, quindi, che la resa della reazione possa essere ottimizzata, ad esempio, incrementando i tempi di reazione o cambiando solvente. Un modesto aumento della resa (da 40 a 56%), infatti, è stato osservato effettuando la reazione in THF e con l'impiego di una quantità doppia di catalizzatore **66** (**Tab. 2**, reazione **h**).

Infine, la reazione di CM è stata utilizzata per legare allo scaffold prolinico una catena più complessa, funzionalizzata in posizione terminale con la 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilammina **84**.

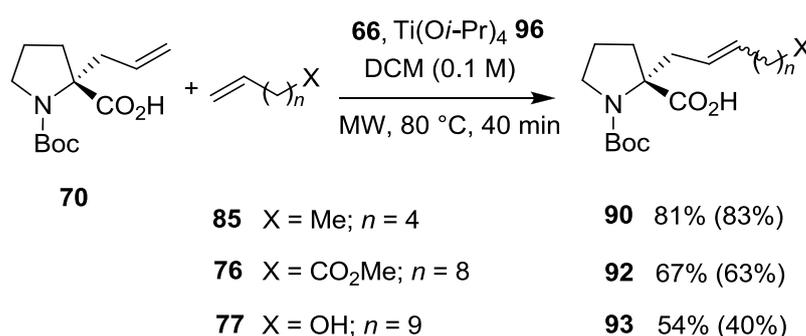
Al derivato prolinico **70** sciolto in CH₂Cl₂, sono stati aggiunti 2.0 equivalenti dell'olefina **84** e 10 mol% di catalizzatore di Grubbs **66**. La miscela di reazione è stata scaldata a 80 °C tramite irraggiamento con MW per 20 minuti e controllata via TLC. A differenza dei casi precedenti, dopo 20 min la reazione non era completa per cui la miscela di reazione è stata nuovamente irraggiata nelle stesse condizioni. Il prodotto **94** è stato quindi ottenuto, dopo purificazione su colonna cromatografica, con una resa del 29%.

⁸⁶ Cossy, J.; BouzBouz, S.; Hoveyda, A. H. *J. of Organomet. Chem.* **2001**, *634*, 216.

Quindi, nonostante l'uso di una quantità maggiore di catalizzatore **66** e del tempo di reazione più lungo è stato osservato un ulteriore abbassamento della resa che sembra legato all'aumento nella complessità dell'olefina. Questo dato può essere spiegato considerando un'interferenza dei gruppi funzionali in posizione terminale dell'alchene di tipo I nella formazione dell'eterodimero. Per esempio, si può supporre che queste olefine in un solvente poco polare come il CH_2Cl_2 , formino degli aggregati tramite interazioni secondarie, come il legame a idrogeno, favorendo reazioni collaterali come l'omodimerizzazione rispetto all'eterodimerizzazione e sfavorendo reazioni di CM secondarie con l'alchene di tipo III. In questo caso abbiamo ritenuto utile giocare sull'effetto solvente e sulla diluizione per cercare di ottenere rese migliori. Come nel caso in cui il *partner* dell'*N*-Boc-allilprolina **70** per la CM era l'olefina **77**, l'impiego del THF come solvente unito ad una maggiore quantità del catalizzatore **66** ha permesso di ottenere il prodotto desiderato **94** con una resa del 48% (**Tab. 2**, reazione **h**) notevolmente più alta di quella ottenuta in CH_2Cl_2 (29%).

E' noto in letteratura che un acido di Lewis come il $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$ può essere usato per incrementare le rese del prodotto di metatesi quando sui reagenti sono presenti basi di Lewis.^{87, 88}

Con l'introduzione di un acido di Lewis come il $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$ **96** (20 mol%) come co-catalizzatore insieme a **66** (5 mol%) si migliora l'attività catalitica del processo e le rese sono risultate leggermente più alte (**Schema 25**).⁸⁹ Si osserva come in presenza della funzione alcolica sull'olefina lineare è meglio utilizzare l'acido di Lewis che ricorrere ad una protezione della funzione ossidrilica.



⁸⁷ Fürstner, A.; Langemann, K. J. *Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9130.

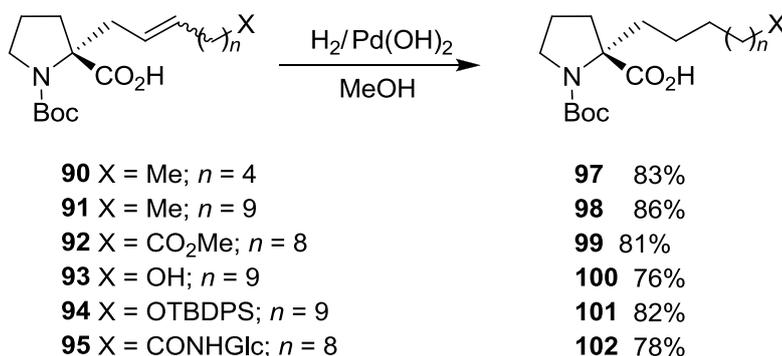
⁸⁸ Per recenti esempi sull'uso del $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$ in CM, vedi: C.-W. Chang, Y.-N. Chen, A. K. Adak, K.-H. Lin, D.-L. M. Tzou, C.-C. Lin, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 4310.

⁸⁹ Per CM su acidi carbossilici insaturi in presenza di $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$, vedi: Bai, C.-X.; Lu, X.-B.; He, R.; Zhang, W. Z.; Feng, X.-J. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 4139.

Schema 25: CM tra **70** ed olefine **76, 77, 85** (2 equiv.) in presenza del catalizzatore di Grubbs **66** (5 mol%) e $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ **96** (20 mol %). Tra parentesi le rese nelle stesse condizioni, ma in assenza di $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ **96**.

Oltre ai problemi nella stereochimica del doppio legame formato in seguito a reazioni di CM sull'allilossazolidinone **71**, per le reazioni sulla prolina **70**, nascono problemi di assegnazione dovuti alla formazione di due conformeri del gruppo Boc. L'analisi degli spettri $^1\text{H-NMR}$ delle proline α -alchilate **90-95** in CDCl_3 mostra la presenza di una miscela di due conformeri apparentemente a sola configurazione *E* ($J_{\text{trans}} = 15 \text{ Hz}$), mentre non è stata osservata la presenza dell'isomero *Z* nel grezzo di reazione.

Le proline α -sostituite **90-95**, a differenza dei corrispondenti derivati ossazolidinonici **86, 88 e 89**, possono essere facilmente idrogenate a pressione atmosferica in presenza di una quantità catalitica di $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ in metanolo. Le reazioni hanno portato alla formazione dei corrispondenti prodotti a catena satura **97-102** con buone rese (76-86%) (**Schema 26**), anch'essi ottenuti come miscela di due conformeri.



Schema 26: Idrogenazione degli alcheni **90-95**

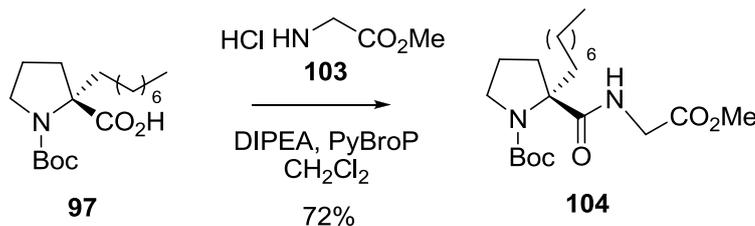
Gli amminoacidi così ottenuti risultano opportunamente protetti per poter essere direttamente utilizzati nella sintesi di lipopeptidi.¹⁹

La prolina glucosilcongiugata **102** fornisce un nuovo interessante esempio di amminoacido glicosilato. Tali molecole sono oggetto di intensi sforzi da un punto di vista sintetico per una loro potenziale applicazione come *tools* biologici in glicopeptidomimetica.⁹⁰

Le catene funzionalizzate con gruppi carbossilici o idrossilici nelle proline **99-102** potrebbero servire per legare l'amminoacido ad altre funzioni, per favorire le interazioni con recettori, o per fissarli su fase solida. Sviluppi in sintesi peptidica verso tali direzioni saranno oggetto di ulteriori studi nel nostro gruppo di ricerca.

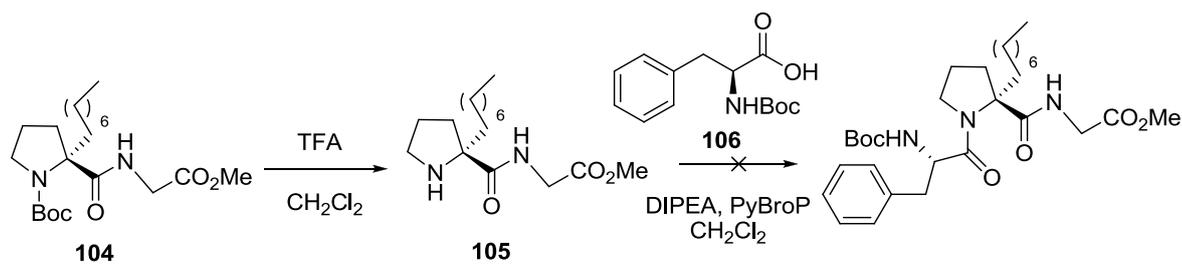
Studi preliminari per verificare la possibilità di inserimento delle lipoproline **97-102**, opportunamente modificate, al posto di residui prolinici o analoghi di piccoli peptidi biologicamente attivi, hanno mostrato come sia possibile effettuare il *coupling* sulla funzione acida di tali amminoacidi.

Il dipeptide **104** ottenuto per accoppiamento tra l'amminoacido **97** ed il cloridrato della glicina metilestere **103** in ambiente anidro utilizzando PyBroP come attivante, è stato ottenuto con una buona resa (72%, **Schema 27**). Il trattamento di tale dipeptide **104** con TFA in CH₂Cl₂ ha portato alla deprotezione della funzione amminica terminale con rese quantitative. Purtroppo non è stato possibile per ora effettuare *coupling* sulla funzione amminica terminale di **105** con quella acida della Boc-L-fenilalanina **106** (**Schema 28**), probabilmente a causa del notevole ingombro sterico creato dalle due catene in α .



Schema 27: Sintesi del dipeptide Pro-Gly **104**

⁹⁰ Per alcune recenti *reviews* su glicoproteine e amminoacidi glicosilati, vedi: (a) Risseeuw, M. D. P.; Overhand, M.; Fleet, G. W. J.; Simone, M. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 2001. (b) Groothuys, S.; Kuijpers, B. H. M.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Roelen, H. C. P. F.; Wiertz, R. W.; Blaauw, R. H.; Van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Synthesis* **2006**, 3146. (c) Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4395.



Schema 28: Sintesi del tripeptide Phe-Pro-Gly.

I risultati dello studio di CM sulle proline α -sostituite **58** sono stati oggetto di una pubblicazione sulla rivista *European Journal of Organic Chemistry*.⁹¹

⁹¹ Lumini, M.; Cordero, F. M.; Pisaneschi, F.; Brandi A. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *16*, 2817.

4.5 CONCLUSIONI:

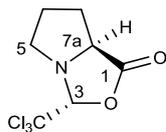
- L'obiettivo di questo lavoro era quello di ottenere una libreria di proline α -sostituite con catene lipofile da utilizzare nella sintesi di peptidomimetici con lo scopo di modificare la struttura secondaria (attraverso l'induzione di β -turn) e variare le proprietà biologiche (ad esempio la capacità di attraversare la membrana cellulare) dei peptidi di riferimento.
- La metodologia sfruttata per ottenere tali lipoproline è stata la *cross*-metatesi (CM) tra allilproline **70** e **71** enantiomericamente pure e olefine di varia lunghezza e diversamente funzionalizzate.
- E' stato condotto con successo uno studio metodologico delle condizioni di tali reazioni di CM per ottimizzare le rese dei prodotti e per cercare di individuare la stereochimica del doppio legame formatosi.
- Sono stati confrontati due processi sintetici alternativi che utilizzano la reazione di CM a livelli diversi della sintesi ed è stato provato che è più efficiente la strategia che prevede la CM sull'intermedio più 'avanzato' **70**.
- Tentativi preliminari di *coupling* con amminoacidi condotti su un derivato prolinico hanno mostrato come questo possa essere realizzato con buone rese sulla funzione acida, mentre, per il notevole ingombro sterico, non ha avuto successo sulla funzione amminica.

4.6 PARTE SPERIMENTALE

I reagenti utilizzati di cui non è riportata la sintesi sono commercialmente disponibili (Aldrich, Fluka) e, se non specificato, sono stati impiegati senza ulteriore purificazione. Le reazioni condotte per irraggiamento di microonde sono state eseguite con un apparecchio Cem Discover. Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro Perkin Elmer 881. Gli spettri NMR sono stati registrati con strumenti Varian Gemini 200 MHz o con 400 MHz Mercury400; i valori di *chemical shift* sono riportati in ppm e sono relativi al segnale del TMS ($\delta = 0.00$ ppm). Il solvente usato è CDCl_3 a meno che non venga diversamente specificato. Nell'assegnazione degli spettri NMR la notazione [ch] indica gli atomi (di C e di H) della catena alchilica posta in posizione 7a per i derivati **86**, **88**, **89** dell'allilossazolidinone **70** e in posizione 2 per i derivati **90-95** dell'*N*-Boc-allilprolina (**71**) ed i corrispondenti prodotti ridotti **97-102**. La notazione [Glc], invece, indica gli atomi (di C e di H) del residuo glucosilato nel prodotto **94** e nel corrispondente prodotto idrogenato **101**. Gli spettri di massa sono stati registrati a 70 eV per iniezione diretta con uno strumento GC-MS Carlo Erba QMD 1000. Le misure di potere ottico rotatorio sono state effettuate con un polarimetro Perkin Elmer 240 C. I punti di fusione (p.f.) sono stati determinati con un apparecchio Büchi 510. Le purificazioni dei prodotti sono state effettuate per via cromatografica mediante FCC (*flash column chromatography*) su gel di silice 32-63 Mesch. I valori di R_f si riferiscono a quelli ottenuti da TLC impiegando fogli di gel di silice dello spessore di 0.25 mm (Merk F₂₅₄); la rivelazione delle macchie è stata effettuata con una lampada U.V. (274 nm), con rivelatori *p*-anisaldeide o permanganato. Le analisi elementari sono state effettuate con un analizzatore Perkin-Elmer 2400. Tutte le reazioni che richiedevano condizioni anidre sono state effettuate in atmosfera di azoto utilizzando solventi distillati prima dell'uso: THF su Na e benzofenone, CH_2Cl_2 su CaH_2 , Et_2O su LiAlH_4 , CH_3CN su CaH_2 , *i*-Pr₂NH su KOH, MeOH su CaH_2 .

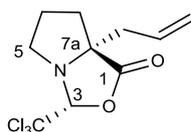
ACRONIMI UTILIZZATI:

Ac= acetato, Boc= *t*-butossicarbonil, Et= etil, Me= metil, Ph= fenil, THF= tetraidrofurano, LDA= litiodiisopropilammide, DIPEA= diisopropiletilammina, NMM= *N*-metilmorfolina, CDMT= 1-Cloro-3,5-dimetossitriazina, TEA= trietilammina, DMF= dimetilformammide, PyBrop= (Benzotriazol-1-ilossi)tripirrolidinofosfonio esafluorofosfato, TBDPS= *t*-butildifenilsilil.

(3*R*,7*aS*)-3-(Triclorometil)tetraidro-1*H*-pirrolo[1,2-*c*][1,3]ossazol-1-one (73):

La L-prolina **72** (7.0 g, 60.8 mmol), anidrificata una notte in essiccatore, viene sospesa in CH₃CN anidro (60 mL) e viene aggiunto clorale (11.9 mL, 121.6 mmol) precedentemente trattato su CaCO₃. La soluzione viene tenuta sotto agitazione, in atmosfera di N₂ per 16 h, poi diluita con CH₂Cl₂ e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto viene ridisciolto in CH₂Cl₂, vengono aggiunti Na₂SO₄ e K₂CO₃ e la miscela di reazione viene tenuta altre 20 h sotto agitazione sempre in atmosfera di N₂, filtrata su celite e concentrata. Si ottiene il composto **73** come solido bianco (9.5 g, resa: 64%).

73: $R_f = 0.58$ (etere di petrolio/AcOEt: 2/1); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz): $\delta = 5.16$ (s, 1H; 3-H), 4.13 (dd, $J = 8.0, 4.4$ Hz, 1H; 7*a*-H), 3.51–3.36 (m, 1H; 5-H_a), 3.21–3.06 (m, 1H; 5-H_b), 2.32–2.02 (m, 2H; 7-H), 2.00–1.53 (m, 2H; 6-H).

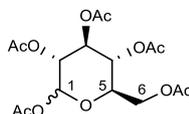
(3*R*,7*aR*)-7*a*-Allil-3-(triclorometil)tetraidro-1*H*-pirrolo[1,2-*c*][1,3]ossazol-1-one (71):

Ad una soluzione dell'ossazolidinone **73** (1.8 g, 7.5 mmol) in THF anidro viene aggiunta g.a.g., in atmosfera di N₂ a –78 °C, una soluzione di LDA 1 M in THF (11.2 mL, 11.2 mmol). Questa viene preparata sgocciolando BuLi 1.6 M in esano (7.0 mL, 11.2 mL) in una soluzione di *i*Pr₂NH anidra (1.9 mL, 13.5 mmol) e THF anidro (2.3 mL) mantenendo una temperatura di –30 °C. La soluzione assume prima un colore giallo poi diventa marrone. Dopo 45 minuti dalla fine dello sgocciolamento, viene aggiunto g.a.g. allilbromuro, ottenendo una soluzione di colore marrone. In 2 ore la miscela di reazione passa da –78 °C a –30 °C, quindi viene effettuato il quench aggiungendo H₂O e CHCl₃ (12 mL ciascuno). Viene ridotto il volume della soluzione a pressione ridotta, la fase acquosa viene estratta con CHCl₃, le fasi organiche riunite, seccate su Na₂SO₄,

filtrate su cotone e concentrate a pressione ridotta. Il prodotto grezzo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/etere dietilico: 5/1); si ottengono 1.5 g di **71** come olio incolore viscoso (resa: 70%).

71: $R_f = 0.44$ (etere di petrolio/etere dietilico: 5/1); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz): $\delta = 5.88$ (m, 1H; $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.20 (m, 1H; $-\text{CH}=\text{CHH}$), 5.14 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H; $-\text{CH}=\text{CHH}$), 4.97 (s, 1H; 3-H), 3.19 (m, 2H; 5-H), 2.57 (m, 2H; $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 2.17–1.97 (m, 2H; 7-H), 1.94–1.55 (m, 2H; 6-H).

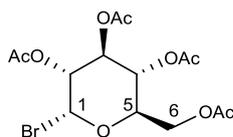
α - e β -1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetil-D-glucopiranosio (**80**):



Al glucosio anidro (**79**, 2.5 g, 13.9 mmol) sciolto in piridina anidra (11.2 mL, 111.0 mmol) viene aggiunta Ac_2O (11.2 mL, 117.9 mmol) a 0 °C sotto N_2 e la soluzione viene lasciata a temperatura ambiente in atmosfera di N_2 per la notte. Vengono eliminate Ac_2O e piridina per concentrazione a pressione ridotta e il grezzo ottenuto viene sciolto in CHCl_3 (20 mL), lavato con H_2O (10 mL) e la fase acquosa viene estratta con CHCl_3 (3x2 mL). Vengono riunite le fasi organiche, seccate su Na_2SO_4 , filtrate su cotone e concentrate a pressione ridotta. Si ottiene **80** come solido bianco che non necessita di purificazione per il seguente step di sintesi (5.4 g, resa quantitativa)

80: $R_f = 0.55$ (AcOEt); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz) miscela di anomeri α e β in rapporto circa 4 a 1 $\delta = 6.33$ (d, $J = 0.3.7$ Hz, 1H; 1-H anomero α), 5.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H; 1-H anomero β), 5.48 (m, 1H; 3-H), 5.29–5.06 (m, 2H; 2-H, 4-H); 4.35–4.21 (m, 1H; 5-H), 4.18–.03 (m, 2H; 6-H), 2.18 (s, 3H; OAc), 2.10 (s, 3H; OAc), 2.05 (s, 3H; OAc), 2.03 (s, 3H; OAc), 2.02 (s, 3H; OAc).

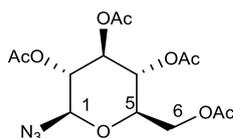
2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosilbromuro (**81**):



L'acetilglucosio **80** (5.4 g, 13.9 mmol) viene sciolto in AcOH (1.4 mL, 24.0 mmol) e Ac_2O (1.4 mL, 14.6 mmol) e, sotto N_2 e agitazione magnetica, viene aggiunta g.a.g. una soluzione di HBr al 33% in AcOH (9.2 mL, 154.0 mmol). Dopo 2 ore la reazione è andata a termine (controllo via TLC, eluente: AcOEt). Viene effettuato il work-up tramite diluizione del prodotto con CH_2Cl_2 (35 mL) e lavaggio della fase organica con H_2O (14 mL) e poi con (14 mL) una soluzione satura di NaHCO_3 (14 mL). La fase organica viene anidrificata su solfato di sodio anidro, filtrata e concentrata. Si ottiene **81** come solido bianco (4.99 g, resa: 87%) che è stato utilizzato senza ulteriori purificazioni nello step successivo.

81: $R_f = 0.84$ (AcOEt); **$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz):** $\delta = 6.62$ (d, $J = 3.7$ Hz, 1H; 1-H), 5.57 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H; 3-H), 5.17 (dd, $J = 10.2, 9.5$ Hz, 1H; 4-H), 4.85 (dd, $J = 9.5, 3.7$ Hz, 1H; 2-H), 4.40–4.26 (m, 2H; 5-H, 6-Ha), 4.23–4.07 (m, 1H; 6-Hb), 2.12 (s, 3H; OAc), 2.10 (s, 3H; OAc), 2.05 (s, 3H; OAc), 2.03 (s, 3H; OAc).

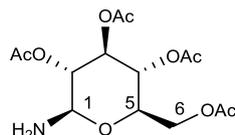
2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilazide (**82**):



In un pallone viene sciolta NaN_3 (2.9 g, 44.5 mmol) in CH_3CN anidro (12 mL) e sotto N_2 viene cannolata una soluzione del glucosilbromuro **81** (4.9 g, 12.0 mmol) sciolto in CH_3CN anidro (12 mL). La miscela di reazione viene riscaldata alla temperatura di riflusso per 3 h e tenuta a temperatura ambiente per 2 giorni. Dopo aver verificato il completamento della reazione tramite TLC (eluente: AcOEt), viene filtrato il sale ottenuto su celite lavando con CH_3CN e la soluzione ottenuta viene concentrata a pressione ridotta. Il grezzo viene ricristallizzato da EtOH ottenendo **82** come solido beige (2.7 g, resa: 65%) per l'utilizzo nel successivo step di sintesi.

82: $R_f = 0.63$ (AcOEt); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz): $\delta = 5.32\text{--}4.90$ (m, 3H; 2-H, 3-H, 4-H), 4.66 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H; 1-H), 4.35–4.09 (m, 2H; 6-H), 3.90–3.76 (m, 1H; 5-H), 2.12 (s, 3H; OAc), 2.10 (s, 3H; OAc), 2.05 (s, 3H; OAc), 2.03 (s, 3H; OAc).

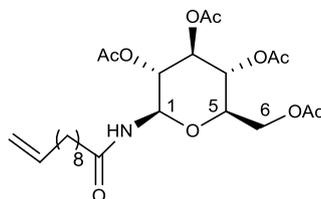
2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilammina (83):



Ad una soluzione di glucosilazide **82** (1.8 g, 5.1 mmol) in MeOH (51 mL), viene aggiunto, sotto N_2 , $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (188 mg, 10%) e successivamente viene sostituita l'atmosfera di N_2 con quella di H_2 a pressione atmosferica. La miscela di reazione viene lasciata la notte sotto agitazione in atmosfera di H_2 . Dopo aver verificato il termine della reazione via TLC (eluente: etere di petrolio/etere dietilico: 3/1), il $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ viene filtrato su cotone rilavando con MeOH e la soluzione viene concentrata sotto pressione ridotta. Si ottiene **83** come solido bianco con resa quantitativa.

83: $R_f = 0.54$ (etere di petrolio/etere di etilico: 3/1); $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz): $\delta = 5.24$ (m, 1H; 4-H), 5.17–4.91 (m, 1H; 3-H), 4.83 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H; 2-H) 4.32–4.04 (m, 3H; 1-H, 6-H), 3.76–3.62 (m, 1H; 5-H), 2.10 (s, 3H; OAc), 2.07 (s, 3H; OAc), 2.02 (s, 3H; OAc), 2.01 (s, 3H; OAc).

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil-*N*-undec-10-enoil- β -D-glucopiranosilammina (84):

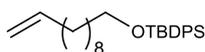


Ad una soluzione di acido undecenoico **75** (279 mg, 1.5 mmol) in THF anidro (1 mL) vengono aggiunti NMM (148 μL , 1.3 mmol) e CDMT (231 mg, 1.3 mmol) sotto N_2 . Dopo circa

1 h e dopo aver controllato via TLC l'effettiva attivazione dell'acido, viene aggiunta tramite cannulamento sotto N₂ la glucosilammina **83** (408 mg, 1.3 mmol) sciolta in THF anidro (1.9 mL) e la miscela di reazione ottenuta viene lasciata in atmosfera di N₂ per la notte. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta poi il residuo è stato sciolto in EtOAc (8 mL) e H₂O (5 mL). Le fasi organiche sono state separate e poi lavate successivamente con H₂O, una soluzione satura di NaHCO₃, brine ed infine seccate su Na₂SO₄ e concentrate. Il prodotto grezzo è stato purificato tramite cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 3/2). Si ottengono complessivamente 961 mg del prodotto voluto **84** (409 mg, 0.8 mmol) come olio giallo con resa del 61%.

84: R_f = 0.14 (etere di petrolio/AcOEt: 2/1); $[\alpha]_D^{25}$ = +15.1 (c = 1.0 CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz):** δ = 6.18 (d, J = 9.3 Hz, 1H; NH), 5.79 (ddt, J = 17.1, 10.2, 6.7 Hz, 1H; -CH=CH₂), 5.30 (t, J = 9.5 Hz, 1H; 2-H), 5.25 (t, J = 9.5 Hz, 1H; 1-H), 5.05 (dd, J = 10.0, 9.5 Hz, 1H; 4-H), 4.98 (dm, J = 17.1 Hz, 1H; CH=C $\overline{H}H$), 4.92 (dm, J = 10.2 Hz, 1H; CH=C $\overline{H}H$), 4.91 (t, J = 9.5 Hz, 1H; 3-H), 4.31 (dd, J = 12.5, 4.3 Hz, 1H; 6-H), 4.07 (dd, J = 12.5, 2.1 Hz, 1H; 6-H), 3.81 (ddd, J = 10.0, 4.3, 2.1 Hz, 1H; 5-H), 2.24–2.07 (m, 2H; 2-H_[ch]), 2.07 (s, 3H; -CH₃), 2.03 (s, 3H; OAc), 2.02 (s, 3H; OAc), 2.01 (s, 3H; OAc), 1.63–1.50 (m, 2H, 9-H_[ch]), 1.40–1.22 (m, 12H; 3-H_[ch], 4-H_[ch], 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch]); **¹³C-NMR (100 MHz):** δ = 173.3 (s; CONH), 170.9 (s; COO⁻), 170.5 (s; COO⁻), 169.8 (s; COO⁻), 169.5 (s; COO⁻), 139.0 (d; -CH=CH₂), 114.1 (t; -CH=C $\overline{H}H$), 78.1 (d; C-1), 73.5 (d; C-5), 72.7 (d; C-2), 70.6 (d; C-3), 68.1 (d; C-4), 61.6 (t; C-6), 36.6 (t; C_[ch]-2), 33.7, 29.2, 29.1, 29.0, 28.9, 28.8 (t; C_[ch]-3, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7, C_[ch]-8), 25.1 (t; C_[ch]-9), 20.7 (q; CH₃), 20.64 (q; CH₃), 20.57 (q, 2C; CH₃); **IR:** ν = 3427, 3077, 2923, 1755, 1697, 1367, 1235, 1043; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 513 (1.51) [M⁺], 389 (22), 320 (22), 278 (31), 169 (37), 81 (84), 69 (37), 55 (100); **analisi elementare** calcolata per C₁₈H₂₅NO₁₀ (513.58): C 58.47, H 7.65, N 2.73; trovata: C 58.08, H 7.80, N 2.46.

t-butil(difenil)(undec-10-en-1-ilossi)silano (78):

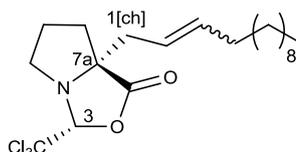


Ad una soluzione di alcool **77** (120 mg, 0.8 mmol) in CH₂Cl₂ anidro (0.5 mL) vengono aggiunti DIPEA appena distillata (420 μ L, 2.4 mmol) e TBDPSCl (300 μ L, 1.2 mmol) sotto N₂, la

soluzione incolore formatasi viene lasciata sotto agitazione magnetica a t.a in atmosfera di N_2 per un giorno. La soluzione, che ha assunto un aspetto bianco lattiginoso, viene concentrata a pressione ridotta, viene aggiunta H_2O (10 mL), la fase organica viene estratta con etere etilico (3x10 mL), lavata con brine, seccata su Na_2SO_4 anidro, concentrata. Il grezzo di reazione viene purificato con cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/ Et_2O : 5/1) e si ottiene il prodotto desiderato **78** come olio incolore (196 mg, resa 65%).

78: $R_f = 0.83$ (Et_2O /etere di petrolio: 1/10); 1H NMR (400 MHz): $\delta = 7.71-7.66$ (m, 4H; Ph), 7.46-7.35 (m, 6H; Ph), 5.83 (ddt, $J = 17.1, 10.2, 6.7$ Hz, 1H; $-\underline{C}H=CH_2$), 5.00 (ddt, $J = 17.1, 2.1, 1.6$ Hz, 1H; $CH=C\underline{H}H$), 4.94 (ddt, $J = 10.2, 2.1, 1.2$ Hz, 1H; $CH=C\underline{H}H$), 3.67 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H; 1-H), 2.09-2.02 (m, 2H; 9-H), 1.61-1.53 (m, 2H; 2-H), 1.43-1.24 (m, 12H; H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8), 1.06 (s, 9H; *t*-Bu); ^{13}C NMR (50 MHz): $\delta = 139.1$ (d; $-\underline{C}H=CH_2$), 135.5 (d; 4C; Ph), 134.1 (s, 2C; Ph), 129.4 (d, 2C; Ph), 127.5 (d, 4C; Ph), 114.1 (t; $-\underline{C}H=CH_2$), 64.0 (t; C-1), 33.9 (t; C-9), 32.6 (t; C-2), 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 29.0, 25.8 (t, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8), 26.9 (q, 3C; CH_3), 19.3 (s; CMe_3); IR: $\nu = 3072, 2929, 1472, 1428, 1111$; MS (70 eV, EI) m/z (%) 365 (3), 351 (33), 199 (100), 183 (20), 91(5), 77 (10); **analisi elementare** calcolata per $C_{27}H_{40}OSi$ (408.69): C 79.35, H 9.87; trovata: C 79.24, H 9.65.

(2E)- e (2Z)-(3R,7aR)-3-(Triclorometil)-7a-(tridec-2-enil)tetraidro-1H-pirrolo[1,2-c][1,3]ossazol-1-one (88):



In un pallone viene sciolto l'allilossazolidinone **71** (185 mg, 0.65 mmol), in CH_2Cl_2 anidro (6.5 mL) e vengono aggiunti l'1-dodecene (**87**) (220 mg, 1.3 mmol) e il catalizzatore di Grubbs **66** (27.6 mg, 0.03 mmol). La soluzione, che assume un color rosso dopo l'aggiunta del catalizzatore, viene scaldata alla temperatura di riflusso (circa 40 °C) per 150 minuti sotto vigorosa agitazione magnetica e poi concentrata a pressione ridotta. Il prodotto ottenuto (olio marrone) viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/ Et_2O : 10/1, deposizione su polverino). Si ottiene il composto **88** (olio incolore, 163 mg, 0.38 mmol, 58% resa), come miscela due isomeri non separabili in rapporto circa 4 a 1 (calcolato via 1H -NMR sul prodotto purificato).

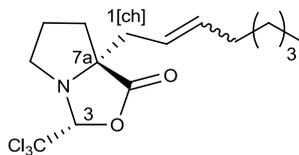
88: $R_f = 0.61$ (etere di petrolio/Et₂O : 5/1); **¹H-NMR (400 MHz):** isomero maggioritario: $\delta = 5.65\text{--}5.53$ (m, 1H; 3-H_[ch]), $5.52\text{--}5.41$ (m, 1H; 2-H_[ch]), 4.96 (s, 1H; 3-H), 3.24–3.10 (m, 2H; 5-H), 2.56 (ddd, $J = 13.8, 6.3, 1.1$, 1H; 1-H_[ch]), 2.47 (dd, $J = 13.8, 7.7$ Hz, 1H; 1-H_[ch]), 2.17–2.07 (m, 1H; 7-H), 2.06–1.96 (m, 3H; 7-H, 2x4-H_[ch]), 1.94–1.83 (m, 1H; 6-H), 1.70–1.56 (m, 1H; 6-H), 1.42–1.16 e 0.92–0.80 (m, 19H; 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch], 10-H_[ch], 11-H_[ch], 12-H_[ch], 13-H_[ch]); isomero minoritario (segnali distinguibili): $\delta = 4.97$ (s, 1H; 3-H), 2.67 (mdd, $J = 14.5, 8.5$ Hz, 1H; 1-H_[ch]); **¹³C-NMR (100 MHz):** $\delta = 177.0$ (s; CO), 136.3 (d; C_[ch]-2), 122.8 (d; C_[ch]-3), 102.3 (d; C-3), 100.2 (s; CCl₃), 71.6 (s; C-7a), 58.4 (t; C-5), 40.4 (t; C_[ch]-1), 35.2 (t; C-7), 32.8, 32.0, 29.7, 29.6, 29.4, 29.2 (t, 9C; C-6, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7, C_[ch]-8, C_[ch]-9, C_[ch]-10, C_[ch]-11), 25.4 (t, 1C; C-6), 22.8 (t; C_[ch]-12), 14.2 (q; C_[ch]-13); **IR:** $\nu = 2927, 2855, 1799, 1457, 1354, 1323, 1275, 1261, 1193, 1105$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 424 (3.10) [M⁺], 369 (4), 268 (13), 209 (28), 85 (36), 83 (43), 71 (65), 57 (100), 55 (99); **analisi elementare** calcolata per C₂₀H₃₂Cl₃NO₂ (424.84): C 56.54, H 7.59, N 3.30; trovata: C 56.38, H 7.68, N 3.20.

Procedura generale per le reazioni di *Cross-Metathesis* con riscaldamento tramite irraggiamento di microonde:

Ad una soluzione di allilprolina **70** o **71** in DCM o in THF (10^{-5} - 10^{-1} M), viene aggiunto l'alchene (2-7 equiv.) e il catalizzatore di Grubbs **66** (5-10 mol-%). La provetta vial viene chiusa e irraggiata in un apparecchio per le microonde ad una potenza di 150 W (con raffreddamento) ad una temperatura da 40 °C to 80 °C sotto vigorosa agitazione per il tempo appropriato. La soluzione viene poi concentrata a pressione ridotta ed il grezzo di reazione purificato per cromatografia su gel di silice. Nel caso degli ossazolidinoni una seconda purificazione risulta necessaria per rimuovere le tracce rimaste del catalizzatore di Rutenio e per ottenere prodotti puri per analisi.

I prodotti prolinici **90-95**, anche dopo purificazione appaiono come oli marroni, non permettendo di ottenere un'analisi elementare dei prodotti. L'identificazione strutturale di tali proline viene indirettamente confermata dalle successive analisi effettuate sui corrispondenti prodotti ridotti (vedi sotto). Gli ossazolidinoni **86** e **89** vengono ottenuti come miscela di isomeri assegnati, in maniera non certa, come *E* e *Z* in rapporto circa 4:1. Le proline **90-95** vengono ottenute come miscele di conformeri in rapporto circa 2:1. Sono riportati i valori spettroscopici ¹H-NMR e ¹³C-NMR dell'isomero/conformero maggioritario.

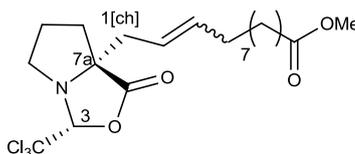
((2E)- e (2Z)-(3R,7aR)-7a-(Ott-2-enil)-3-(triclorometil)tetraidro-1H-pirrolo[1,2-c][1,3]ossazol-1-one (86):



In accordo alla procedura generale, usando **72** (89 mg, 0.31 mmol) il prodotto **87** (81 mg, 0.23 mmol, 74% resa) è stato ottenuto come olio incolore.

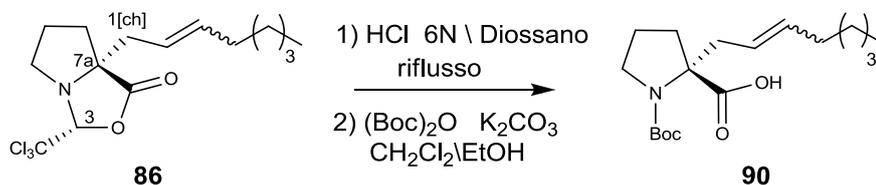
86: $R_f = 0.38$ (etere di petrolio/Et₂O: 6/1); **¹H-NMR (400 MHz) isomero maggioritario:** $\delta = 5.66\text{--}5.53$ (m, 1H; 3-H_[ch]), 5.52–5.42 (m, 1H; 2-H_[ch]), 4.96 (s, 1H; 3-H), 3.24–3.10 (m, 2H; 5-H), 2.56 (mdd, $J = 13.9; 6.3$ Hz, 1H; 1-H_[ch]), 2.47 (dd, $J = 13.9, 7.8$ Hz, 1H; 1-H_[ch]), 2.17–1.94 (m, 4H; 7-H, 4-H_[ch]), 1.93–1.82 (m, 1H; 6-H), 1.72–1.58 (m, 1H; 6-H), 1.40–1.21 (m, 6H; 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch]), 0.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H; 8-H_[ch]); **isomero minoritario** (segnali distinguibili): $\delta = 4.97$ (s, 1H; 3-H), 2.67 (dd, $J = 14.5, 8.4$ Hz, 1H; 1-H_[ch]); **¹³C-NMR (100 MHz):** $\delta = 176.4$ (s; CO), 136.4 (d; C_[ch]-2), 122.9 (d; C_[ch]-3), 102.4 (d; C-3), 100.5 (s; CCL₃), 71.6 (s; C-7a), 58.3 (t; C-5), 40.4 (t; C_[ch]-1), 35.1 (t; C-7), 32.6 (t; C_[ch]-4), 31.3, 29.0 (t; C_[ch]-5, C_[ch]-6), 25.3 (t; C-6), 22.4 (t; C_[ch]-7), 14.0 (q; C_[ch]-8); **isomero minoritario** (segnali distinguibili): $\delta = 176.5$ (s; CO), 136.3 (d, C_[ch]-2), 122.3 (d; C_[ch]-3), 102.5 (d; C-3), 71.8 (s; C-7a), 58.3 (t; C-5), 13.9 (q; C_[ch]-8); **IR:** $\nu = 2958, 2928, 1799, 1458, 1354, 1323, 1275, 1192, 1105$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 354 354 (0.45) [M⁺], [246 (30), 244 (91), 242 (93) M-C₈H₁₅], 96 (100), 68 (33), 55 (20); **analisi elementare** calcolata per C₁₅H₂₂Cl₃NO₂ (354.70): C 50.79, H 6.25, N 3.95; trovata: C 50.50, H 6.48, N 4.02.

(2E)- e (2Z)-Metil-12-[(3R,7aR)-1-osso-3-(triclorometil)diidro-1H-pirrolo[1,2-c][1,3]ossazol-7a(5H)-il]dodec-10-enoato (89):



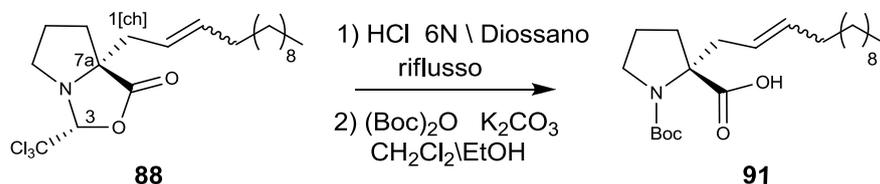
In accordo con la procedura generale, usando **71** (105 mg, 0.37 mmol) il prodotto **89** (95 mg, 0.21 mmol, 57% resa) è stato ottenuto come olio incolore.

89: $R_f = 0.39$ (etere di petrolio/etere dietilico: 6/1); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz):** isomero maggioritario: $\delta = 5.65\text{--}5.53$ (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 3- $\text{H}_{[ch]}$), $5.52\text{--}5.42$ (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 2- $\text{H}_{[ch]}$), 4.96 (s, 1H; 3-H), 3.66 (s, 3H; OCH_3), $3.24\text{--}3.11$ (m, 2H; 5-H), 2.55 (broad dd, $J = 14, 6.3$ Hz, 1H; 1- $\text{H}_{[ch]a}$), 2.47 (dd, $J = 13.9, 7.6$ Hz, 1H; 1- $\text{H}_{[ch]b}$), 2.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H; 11- $\text{H}_{[ch]}$), $2.15\text{--}2.07$ (m, 1H; 7-Ha), $2.06\text{--}1.93$ (m, 3H; 7-Hb, 4- $\text{H}_{[ch]}$), $1.92\text{--}1.83$ (m, 1H; 6-Ha), $1.71\text{--}1.57$ (m, 3H; 6-Hb, 10- $\text{H}_{[ch]}$), $1.40\text{--}1.23$ (m, 10H; 5- $\text{H}_{[ch]}$, 6- $\text{H}_{[ch]}$, 7- $\text{H}_{[ch]}$, 8- $\text{H}_{[ch]}$, 9- $\text{H}_{[ch]}$), isomero minoritario (segnali distinguibili): $\delta = 4.97$ (s, 1H; 3-H), 2.67 (dd, $J = 14.4, 8.4$ Hz, 1H; 1- $\text{H}_{[ch]}$); **$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz):** $\delta = 176.3$ (s; CO), 174.2 (s; $\text{C}_{[ch]}\text{O}$), 136.2 (d; $\text{C}_{[ch]}\text{-}2$), 123.0 (d; $\text{C}_{[ch]}\text{-}3$), 102.3 (d; C-3), 100.5 (s; CCl_3), 71.6 (s; C-7a), 58.3 (t; C-5), 51.4 (q; OMe), 40.3 (t; $\text{C}_{[ch]}\text{-}1$), 35.1 (t; C-7), 34.0 (t; $\text{C}_{[ch]}\text{-}11$), 32.6 (t; $\text{C}_{[ch]}\text{-}4$), $29.3, 29.2$ (2C), $29.1, 29.0$ (t, $\text{C}_{[ch]}\text{-}5, \text{C}_{[ch]}\text{-}6, \text{C}_{[ch]}\text{-}7, \text{C}_{[ch]}\text{-}8, \text{C}_{[ch]}\text{-}9$), 25.2 (t; C-6), 24.9 (t; $\text{C}_{[ch]}\text{-}10$), isomero minoritario (segnali distinguibili): $\delta = 134.6$ (d; $\text{C}_{[ch]}\text{-}2$), 122.3 (d; $\text{C}_{[ch]}\text{-}3$), 102.4 (d; C-3), 71.7 (s; C-7a), 58.4 (t; C-5); **IR:** $\nu = 2929, 2856, 1799, 1730, 1437, 1354, 1323, 1275, 1193, 1105$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 455 (0.1) [M^+], 424 (0.76), 280 (6), 246 (30), 244 (97), 242 (100), 96 (95), 68 (37), 55 (35); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{Cl}_3\text{NO}_4$ (454.82): C 52.82, H 6.65, N 3.08; trovata: C 52.47, H 6.76, N 2.82.



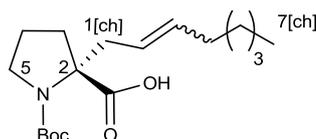
L'ottenilossazolidinone **86** (72 mg, 0.2 mmol) viene sciolto in diossano (0.6 mL) e HCl 6 N (0.6 mL), la soluzione ottenuta viene portata a riflusso (temperatura del bagno circa 130 °C) per 24 h e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto ottenuto viene sciolto in EtOH anidro e CH_2Cl_2 anidro (1.1 mL ciascuno) e, sotto N_2 , viene aggiunto prima K_2CO_3 (92 mg, 0.7 mmol) e poi $(\text{Boc})_2\text{O}$ (49 mg, 0.2 mmol). La miscela di reazione (soluzione color marrone) viene lasciata in atmosfera di N_2 sotto agitazione magnetica per 2 giorni; in seguito viene effettuato il *work-up* tramite aggiunta di una soluzione acquosa di KHSO_4 al 10% e AcOEt. Le fasi vengono separate e la fase acquosa viene estratta con AcOEt (3x12 mL). Le fasi organiche vengono riunite, seccate su Na_2SO_4 anidro e concentrate per ottenere un olio marrone che viene purificato per

cromatografia su gel di silice (eluente: *n*-esano/AcOEt: 2/1). Si ottengono 18 mg (28% resa) del prodotto desiderato **90** come olio incolore.



Il composto **88** (156 mg, 0.4 mmol) viene sciolto in diossano (1.1 mL) e HCl 6 N (1.1 mL), la soluzione viene portata a riflusso (T del bagno circa 130 °C) per 24 h e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto ottenuto viene sciolto in EtOH anidro e CH₂Cl₂ anidro (1.8 mL ciascuno) e, sotto N₂, viene aggiunta DIPEA (0.2 mL, 1.2 mmol) e poi (Boc)₂O (83 mg, 0.4 mmol). La miscela di reazione (soluzione color marrone) viene lasciata in atmosfera di N₂ sotto agitazione magnetica per 2 giorni; in seguito viene effettuato il *work-up* tramite aggiunta di una soluzione di KHSO₄ al 10% e AcOEt e la fase acquosa viene estratta con AcOEt (3x12 mL). Le fasi organiche vengono riunite, seccate su Na₂SO₄ anidro e concentrate per ottenere un olio marrone che viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: Et₂O/etere di petrolio: 1/1). Si ottengono 34 mg del prodotto desiderato **91** in forma di olio incolore con una resa del 24%.

(2E)- e (2Z)-1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(-ott-2-enil)-L-prolina (90**):**

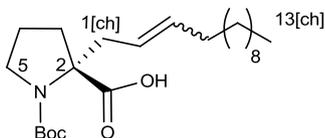


In accordo con la procedura generale, usando **70** (35 mg, 0.14 mmol) è stato ottenuto il prodotto **91** (41 mg, 0.13 mmol, 92% resa).

90: $R_f = 0.33$ (*n*-esano/EtOAc: 2/1); **¹H-NMR (400 MHz):** $\delta = 5.61\text{--}5.47$ (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 3-H_[ch]), 5.36–5.15 (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 2-H_[ch]), 3.55–3.45 (m, 1H; 5-H), 3.30–3.20 (m, 1H; 5-H), 2.85 (dd, $J = 13.5, 7.5$ Hz 1H; 1-H_[ch]), 2.60 (dd, $J = 13.5, 7.5$ Hz 1H; 1-H_[ch]), 2.04–1.70 (m, 6H; 3-H, 4-H, 4-H_[ch]), 1.48 (s, 9H; Boc), 1.38–1.21 (m, 6H; 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch]); 0.88 (t, $J = 6.9$

Hz, 3H; 8-H_[ch]); **IR**: ν = 2929, 2856, 1739, 1711, 1689, 1609, 1403, 1162; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 327 (0.03) [M⁺], 224 (33), 180 (26), 114 (86), 96 (17), 57 (100).

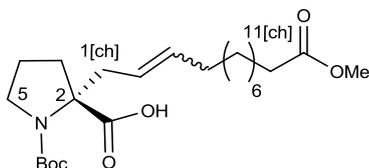
(2E)- e (2Z)-1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(tridec-2-enil)-L-prolina (91):



In accordo con la procedura generale, usando **70** (56 mg, 0.22 mmol) è stato ottenuto il prodotto **91** (75 mg, 0.19 mmol, 86% resa).

91: R_f = 0.14 (etere di petrolio/ Et₂O: 1/1); **¹H-NMR (400 MHz)**: δ = 5.60–5.46 (m, J_{trans} = 15 Hz, 1H; 3-H_[ch]), 5.37–5.26 (m, J_{trans} = 15 Hz, 1H; 2-H_[ch]), 3.68 (ddd J = 10.6, 7.6, 5.8 Hz, 1H; 5-H_a), 3.37 (dt, J = 10.6, 7.0 Hz, 1H; 5-H_b), 2.87 (broad dd, J = 14.1, 6.5 Hz, 1H; 1-H_{[ch]a}), 2.51 (dd, J = 14.1, 8.0 Hz, 1H; 1-H_{[ch]b}), 2.26–1.76 (m, 6H; 3-H, 4-H, 4-H_[ch]), 1.53 (s, 9H; Boc), 1.55–1.23 (m, 16H; 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch], 10-H_[ch], 11-H_[ch], 12-H_[ch]); 0.88 (t J = 6.8 Hz, 3H; 13-H_[ch]); Segnali distinguibili prodotto minoritario: 3.61-3.54 (m, 1H; 5-H_a), 3.10-3.02 (m, 1H; 1-H_{[ch]a}), 2.74-2.66 (m, 1H; 1-H_{[ch]b}); **IR**: ν = 2928, 2855, 1740, 1686, 1608, 1436, 1406, 1369, 1162; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 395 (0.32) [M⁺], 308 (18), 294 (45), 250 (32), 186 (19), 114 (100), 96 (21), 57 (90).

(2E)- e (2Z)- 1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(12-metossi-12-ossododec-2-enil)-L-prolina (92):

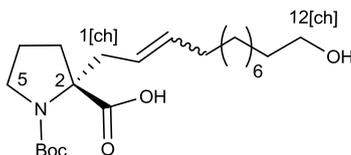


In accordo con la procedura generale, usando **70** (49 mg, 0.19 mmol) è stato ottenuto il prodotto **92** (51 mg, 0.12 mmol, 63% resa).

92: R_f = 0.31 (EtOAc/etere di petrolio: 1/2); **¹H-NMR (400 MHz)**: δ = 5.60–5.50 (m, J_{trans} = 15 Hz, 1H; 3-H_[ch]), 5.28–5.17 (m, J_{trans} = 15 Hz, 1H; 2-H_[ch]), 3.66 (m, 3H; OMe), 3.52–3.45 (m, 1H; 5-H_a), 3.30–3.21 (m, 1H; 5-H_b), 2.85–2.77 (m, 1H; 1-H_{[ch]a}), 2.67–2.57 (m, 1H; 1-H_{[ch]b}), 2.29 (t,

$J = 7.5$ Hz, 2H; 11- $H_{[ch]}$), 2.03–1.71 (m, 6H; 3-H, 4-H, 4- $H_{[ch]}$), 1.65–1.56 (m, 2H; 10- $H_{[ch]}$), 1.48 (s, 9H; Boc), 1.46–1.43 and 1.36–1.23 (m, 10H; 5- $H_{[ch]}$, 6- $H_{[ch]}$, 7- $H_{[ch]}$, 8- $H_{[ch]}$, 9- $H_{[ch]}$); **IR**: $\nu = 2930, 2856, 1732, 1689, 1609, 1436, 1401, 1368, 1167$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 425 (8.3) [M^+], 280 (22), 220 (8), 114 (50), 165 (20), 83 (43), 57 (100).

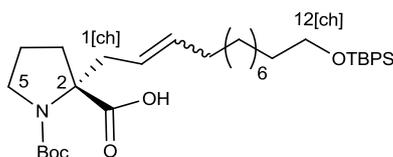
(2E)- e (2Z)-1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(13-idrossitridec-3-enil)-L-prolina (93):



In accordo con la procedura generale, usando **70** (46 mg, 0.18 mmol) è stato ottenuto il prodotto **93** (41mg, 0.10 mmol, 56% resa).

93: $R_f = 0.31$ (*n*-esano/EtOAc: 1/5); **1H -NMR (400 MHz)**: $\delta = 5.59$ – 5.50 (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 3- $H_{[ch]}$), 5.29–5.18 (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 2- $H_{[ch]}$), 3.63 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H; 12- $H_{[ch]}$), 3.53–3.45 (m, 1H; 5-Ha), 3.31–3.21 (m, 1H; 5-Hb), 2.83–2.76 (m, 1H; 1- $H_{[ch]}$), 2.66–2.60 (m, 1H; 1- $H_{[ch]}$), 2.06–1.51 (m, 8H; 3-H, 4-H, 4- $H_{[ch]}$, 11- $H_{[ch]}$), 1.48 (s, 9H; Boc), 1.40–1.24 (m, 12H; 5- $H_{[ch]}$, 6- $H_{[ch]}$, 7- $H_{[ch]}$, 8- $H_{[ch]}$, 9- $H_{[ch]}$, 10- $H_{[ch]}$); **IR**: $\nu = 3507, 2931, 2856, 1742, 1607, 1407, 1265, 1161$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 352 (0.3), 338 (0.3), 324 (0.5), 310 (0.3), 297 (1.2), 252 (34), 114 (100), 96 (15), 57 (97).

(2E)- e (2Z)-1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(12-{[*t*-butil(difenil)silil]ossi}dodec-2-enil)-L-prolina (95):

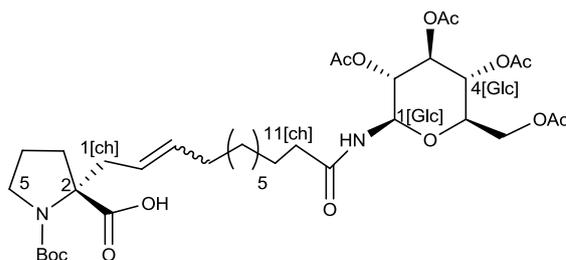


In accordo con la procedura generale, usando **70** (50 mg, 0.20 mmol) è stato ottenuto il prodotto **95** (52 mg, 0.08 mmol, 40% resa).

95: $R_f = 0.30$ (etere di petrolio/AcOEt: 3/1); **1H -NMR (400 MHz)**: $\delta = 7.69$ – 7.65 (m, 4H; Ph), 7.44–7.34 (m, 6H; Ph), 5.63–5.51 (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 3- $H_{[ch]}$), 5.28–5.17 (m, $J_{trans} = 15$ Hz, 1H; 2- $H_{[ch]}$), 3.65 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H; 12- $H_{[ch]}$), 3.53–3.44 (m, 1H; 5-Ha), 3.33–3.20 (m, 1H; 5-Hb), 2.85–2.76 (m, 1H; 1- $H_{[ch]}$ a), 2.72–2.60 (m, 1H; 1- $H_{[ch]}$ b), 2.07–1.67 (m, 6H; 3-H, 4-H, 4- $H_{[ch]}$), 1.59–1.51

(m, 2H; 11-H_[ch]), 1.49 (s, 9H; CH₃ Boc), 1.38-1.22 (m, 12H; 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch], 10-H_[ch]), 1.01 (s, 9H; CH₃ TBDPS); **IR**: ν = 2931, 2857, 1686, 1611, 1467, 1428, 1368, 1171, 1112; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 536 (1.41) [M⁺], 522 (1), 477 (1), 234 (2), 199 (15), 114 (21), 83 (13), 57 (100).

(2E)- e **(2Z)-1-(*t*-Butossicarbonil)-2[12-(2,3,4,6,-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilammino)-12-ossododec-2-enil]-L-prolina (**94**):**



In accordo con la procedura generale, usando **70** (80 mg, 0.31 mmol) è stato ottenuto il prodotto **94** (110 mg, 0.15 mmol, 48% resa).

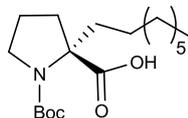
94: R_f = 0.32 (CH₂Cl₂/MeOH: 25/1); **¹H-NMR (400 MHz)**: δ = 6.22 (d, J = 9.8 Hz, 1H; NH), 5.71–5.57 (m, 1H; 3-H_[ch]), 5.30 (t, J = 9.5 Hz, 1H; 2-H_[Glc]), 5.26 (broad t, J = 9.1 Hz, 1H; 1-H_[Glc]), 5.23-5.09 (m, 1H; 2-H_[ch]), 5.06 (dd, J = 10.1, 9.4 Hz, 1H; 4-H_[Glc]), 4.91 (dt, J = 2.6, 9.6 Hz, 1H; 3-H_[Glc]), 4.31 (dd, J = 12.5, 4.3 Hz, 1H; 6-H_{[Glc]a}), 4.07 (dd, J = 12.5, 2.1 Hz, 1H; 6-H_{[Glc]b}), 3.81 (ddd, J = 10.1, 4.3, 2.1 Hz, 1H; 5-H_[Glc]), 3.55–3.45 (m, 1H; 5-Ha), 3.34–3.21 (m, 1H; 5-Hb), 2.90 (dd, J = 13.7, 7.1 Hz, 1H; 1-H_{[ch]a}), 2.85–2.49 (m, 4H; 3-Ha, 1-H_{[ch]b}, 4-H_[ch]), 2.24–2.09 (m, 2H; 11-H_[ch]), 2.07 (s, 3H; OAc), 2.04 (s, 3H; OAc), 2.03 (s, 3H; OAc), 2.01 (s, 3H; OAc), 2.03-1.52 (m, 5H; 3-Hb, 4-H, 10-H_[ch]), 1.48 (s, 9H; Boc), 1.47-1.38 and 1.36–1.22 (m, 10H; 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch]); **IR**: ν = 3427, 2931, 2856, 1747, 1711, 1689, 1404, 1369, 1228, 1040; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 741 (0.52) [M⁺], 595 (33), 266 (11), 248 (21), 169 (31), 114 (98), 96 (40), 70 (53), 57 (100), 55 (57).

Procedura generale per l'idrogenazione catalitica:

La soluzione dei prodotti di CM in MeOH (10⁻¹ M) a cui è stato aggiunto Pd(OH)₂/C 20% (10 mol-%) viene lasciata per una notte sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente in atmosfera di H₂.

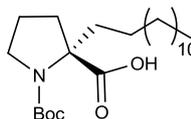
La miscela di reazione viene filtrata, concentrata e purificata su colonna cromatografica per dare i prodotti di idrogenazione desiderati, ottenuti come miscela di due conformeri. Sono riportati solo i segnali relativi al conformero maggioritario.

1-(*t*-Butossicarbonil)-2-ottenil-L-prolina (97):



97: Olio incolore, **Resa**= 83%; **R_f**= 0.31 (*n*-esano/AcOEt: 1/1); **[α]_D²⁴**= -29.1 (c = 0.6, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz):** δ = 3.53–3.45 (m, 1H; 5-Ha), 3.34–3.25 (m, 1H; 5-Hb), 2.77–2.66 (m, 1H; 3-Ha), 2.22–2.07 (m, 1H; 1-H_{[ch]a}), 1.89–1.69 (m, 4H; 3-Hb, 4-H, 1-H_{[ch]b}), 1.49 (s, 9H; Boc), 1.35–1.12 (m, 12H; 2-H_[ch], 3-H_[ch], 4-H_[ch], 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch]), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 3H; 8-H_[ch]); **¹³C-NMR (100 MHz):** δ = 174.3 (s; CO₂H), 157.5 (s; CO Boc), 82.2 (s; $\underline{C}(\text{CH}_3)_3$), 70.9 (s; C-2), 49.4 (t; C-5), 34.9 (t; C-3), 34.4 (t; C_[ch]-1), 31.8 (t; C_[ch]-2), 29.5, 29.4, 29.1, 24.0, 22.7, 22.6 (t; 6C; C-4, C_[ch]-3, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7), 28.4 (q, 3C; CH₃ Boc), 14.1 (q; C_[ch]-8); **IR:** ν = 2926, 2856, 1740, 1689, 1455, 1435, 1369, 1162; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 226 (52), 212 (9), 182 (28), 96 (12), 83 (26), 57 (100), 55 (39); **analisi elementare** calcolata per C₁₈H₃₃NO₄ (327.46): C 66.02, H 10.16, N 4.28; trovata: C 65.69, H 10.38, N 3.96.

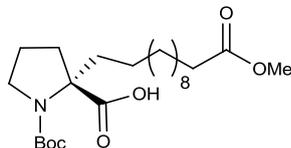
1-(*t*-Butossicarbonil)-2-tridecil-L-prolina (98):



98: Olio incolore, **Resa**= 86%; **R_f**= 0.28 (*n*-esano/AcOEt: 5/1); **[α]_D²⁴**= -7.3 (c = 0.7, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz):** δ = 3.54–3.45 (m, 1H; 5-Ha), 3.36–3.26 (m, 1H; 5-Hb), 2.79–2.68 (m, 1H; 3-Ha), 2.24–2.09 (m, 1H; 1-H_{[ch]a}), 1.91–1.70 (m, 4H; 3-Hb, 4-H, 1-H_{[ch]b}), 1.49 (s, 9H; Boc), 1.34–1.23 (m, 22H; 2-H_[ch], 3-H_[ch], 4-H_[ch], 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch], 10-H_[ch], 11-H_[ch], 12-H_[ch]); 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 3H; 13-H_[ch]); **¹³C-NMR (100 MHz):** δ = 174.1 (s; CO₂H), 157.6 (s; CO Boc), 82.3 (s; $\underline{C}(\text{CH}_3)_3$), 71.0 (s; C-2), 49.4 (t; C-5), 34.9 (t; C-3), 34.5 (t; C_[ch]-1), 31.9 (t; C_[ch]-2), 29.6, 29.5 (4C), 29.4 (2C), 29.2, 23.9, 22.7, 22.6 (t; 11C; C-4, C_[ch]-3, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7, C_[ch]-8, C_[ch]-9, C_[ch]-10, C_[ch]-11, C_[ch]-12), 28.3 (q, 3C; CH₃ Boc), 14.0 (q; C_[ch]-13); **IR:** ν = 2928, 2855, 1741, 1689, 1405, 1369, 1162; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 398 (0.05) [M⁺], 296 (100), 282

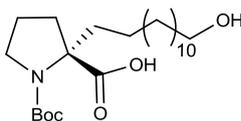
(29), 252 (55), 114 (29), 96 (24), 57 (93); **analisi elementare** calcolata per $C_{23}H_{43}NO_4$ (397.59): C 69.48, H 10.90, N 3.52; trovata: C 69.29, H 11.14, N 3.45.

1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(12-metossi-12-ossododecil)-L-prolina (99):



99: Olio giallo, **Resa**= 81%; R_f = 0.24 (*n*-esano/AcOEt: 3/2); $[\alpha]_D^{26} = -27.3$ ($c = 0.4$, $CHCl_3$); **1H -NMR (400 MHz):** $\delta = 3.66$ (m, 3H; OMe), 3.52–3.46 (m, 1H; 5-Ha), 3.34–3.25 (m, 1H; 5-Hb), 2.80–2.72 (m, 1H; 3-Ha), 2.30 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H; 11- $H_{[ch]}$), 2.26–2.15 (m, 1H; 1- $H_{[ch]a}$), 1.86–1.68 (m, 4H; 3-Hb, 4-H, 1- $H_{[ch]b}$), 1.61 (tt, $J = 7.5, 7.1$ Hz, 2H; 10- $H_{[ch]}$), 1.49 (s, 9H; Boc), 1.32–1.22 (m, 16H; 2- $H_{[ch]}$, 3- $H_{[ch]}$, 4- $H_{[ch]}$, 5- $H_{[ch]}$, 6- $H_{[ch]}$, 7- $H_{[ch]}$, 8- $H_{[ch]}$, 9- $H_{[ch]}$); **^{13}C -NMR (100 MHz):** $\delta = 174.3$ (s, 2C; CO_2Me , CO Boc), 82.4 (s; $\underline{C}(CH_3)_3$), 69.9 (s; C-2), 51.4 (q; OMe), 49.6 (t; C-5), 34.4 (t; $C_{[ch]-10}$), 34.1 (t; $C_{[ch]-11}$), 34.8 (t; C-3), 31.6, 29.5 (2C), 29.4, 29.2, 29.1, 24.9, 24.0, 22.7, 22.6 (t, 10C; C-4, $C_{[ch]-1}$, $C_{[ch]-2}$, $C_{[ch]-3}$, $C_{[ch]-4}$, $C_{[ch]-5}$, $C_{[ch]-6}$, $C_{[ch]-7}$, $C_{[ch]-8}$, $C_{[ch]-9}$), 28.4 (q, 3C; CH_3 Boc); **IR:** $\nu = 2929, 2855, 1732, 1438, 1408, 1369, 1164$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 412 (4.7), 282 (83), 268 (37), 114 (10), 96 (30), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $C_{23}H_{41}NO_6$ (427.57): C 64.61, H 9.67, N 3.28; trovata: C 64.21, H 9.57, N 3.33.

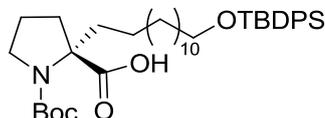
1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(12-idrossidodecil)-L-prolina (100):



100: Olio giallo, **Resa**= 76%; R_f = 0.34 (*n*-esano/AcOEt: 2/1); $[\alpha]_D^{25} = -22.1$ ($c = 0.8$, $CHCl_3$); **1H -NMR (400 MHz):** $\delta = 3.64$ (t, $J = 6.6$ Hz, 2H; 12- $H_{[ch]}$), 3.52–3.44 (m, 1H; 5-Ha), 3.34–3.25 (m, 1H; 5-Hb), 2.80–2.71 (m, 1H; 3-Ha), 2.26–2.15 (m, 1H; 1- $H_{[ch]a}$), 1.85–1.70 (m, 4H; 1- $H_{[ch]b}$, 3-Hb, 4-H), 1.56 (tt, $J = 7.1, 6.9$ Hz, 2H; 11- $H_{[ch]}$), 1.49 (s, 9H; Boc), 1.37–1.22 (m, 18H; 2- $H_{[ch]}$, 3- $H_{[ch]}$, 4- $H_{[ch]}$, 5- $H_{[ch]}$, 6- $H_{[ch]}$, 7- $H_{[ch]}$, 8- $H_{[ch]}$, 9- $H_{[ch]}$, 10- $H_{[ch]}$); **^{13}C -NMR (50 MHz):** $\delta = 173.8$ (s; CO_2H), 157.3 (s; CO Boc), 82.3 (s; $\underline{C}(CH_3)_3$), 70.9 (s; C-2), 63.2 (t; $C_{[ch]-12}$), 49.6 (t; C-5), 35.1 (t; C-3), 34.3 (t; $C_{[ch]-1}$), 33.0 (t; $C_{[ch]-11}$), 29.8 (6C), 29.6 (2C), 25.9 (t, 9C; $C_{[ch]-2}$, $C_{[ch]-3}$, $C_{[ch]-4}$, $C_{[ch]-5}$, $C_{[ch]-6}$, $C_{[ch]-7}$, $C_{[ch]-8}$, $C_{[ch]-9}$, $C_{[ch]-10}$), 28.5 (q, 3C; CH_3 Boc), 22.9 (t; C-4); **IR:** $\nu = 2930, 2855, 1736, 1610, 1406, 1265, 1162$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 341 (3), 254 (7), 120 (68), 108 (26), 91

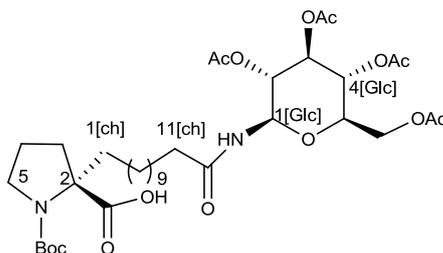
(100), 77 (45), 57 (53); **analisi elementare** calcolata per $C_{22}H_{41}NO_5$ (399.56): C 66.13, H 10.34, N 3.51; trovata: C 65.82, H 10.35, N 3.15.

1-(*t*-Butossicarbonil)-2-(12-{{*t*-butil(difenil)silil]ossi}dodecil)-L-prolina (102):



102: Olio incolore, **Resa**= 82%; **R_f**= 0.30 (etere di petrolio/AcOEt: 3/1); **[α]_D²⁵**= -15.7 (c = 0.6, $CHCl_3$); **¹H-NMR (400 MHz):** δ = 7.69-7.64 (m, 4H; Ph), 7.44-7.34 (m, 6H; Ph), 3.65 (t, J = 6.6 Hz, 2H; 12-H_[ch]), 3.53-3.46 (m, 1H; 5-Ha), 3.35-3.25 (m, 1H; 5-Hb), 2.79-2.70 (m, 1H; 3-Ha), 2.25-2.16 (m, 1H; 1-H_{[ch]a}), 1.88-1.70 (m, 4H; 1-H_{[ch]b}, 3-Hb, 4-H), 1.55 (tt, J = 6.8, 6.5 Hz, 2H; 11-H_[ch]), 1.49 (s, 9H; Boc), 1.37-1.21 (m, 18H; 2-H_[ch], 3-H_[ch], 4-H_[ch], 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch], 10-H_[ch]), 1.05 (s, 9H; CH₃ tBu); **¹³C-NMR (100 MHz):** δ = 174.0 (s; CO₂H), 157.5 (s; CO Boc), 135.5 (d, 4C; Ph), 134.1 (d, 2C; Ph), 129.4 (d, 2C; Ph), 127.5 (d, 4C; Ph), 82.3 (s; OC(CH₃)₃), 71.0 (s; C-2), 64.0 (t; C_[ch]-12), 49.4 (t; C-5), 34.9 (t; C-3), 34.4 (t; C_[ch]-1), 32.6 (t; C_[ch]-11), 29.8 (2C), 29.6 (2C), 29.3 (2C), 25.8, 24.0, 22.7, 19.2, (t; 10C; C-4, C_[ch]-2, C_[ch]-3, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7, C_[ch]-8, C_[ch]-9, C_[ch]-10), 28.4 (q, 3C; CH₃ Boc), 26.9 (q, 3C; CH₃ TBDPS), 19.3 (s; SiCMe₃); **IR:** ν = 2930, 2856, 1738, 1609, 1428, 1407, 1369, 1159, 1111; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 493 (8), 481 (9), 466 (10), 199 (24), 96 (20), 83 (32), 57 (100), 55 (59); **analisi elementare** calcolata per $C_{38}H_{59}NO_5Si$ (637.96): C 71.54, H 9.32, N 2.20; trovata: C 71.14, H 9.44, N 2.16.

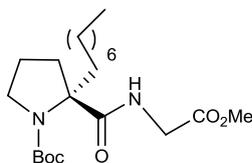
1-(*t*-Butossicarbonil)-2-[12-osso-12-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilammino)dodecanoil]-L-prolina (101):



101: Olio incolore, **Resa**= 78%; **R_f**= 0.17 (*n*-esano/AcOEt: 5/1); **[α]_D²⁵**= 8.7 (c = 0.3, $CHCl_3$); **¹H-NMR (400 MHz):** δ = 6.19 (d, J = 9.4 Hz, 1H; NH), 5.30 (t, J = 9.5 Hz, 1H; 2-H_[Glc]), 5.26 (t, J = 9.4 Hz, 1H; 1-H_[Glc]), 5.06 (t, J = 9.6 Hz, 1H; 4-H_[Glc]), 4.91 (t, J = 9.6 Hz, 1H; 3-H_[Glc]), 4.31 (dd, J = 12.5, 4.3 Hz, 1H; 6-H_[Glc]), 4.07 (dd, J = 12.5, 2.1 Hz, 1H; 6-H_[Glc]), 3.81 (ddd, J = 10.1, 4.3, 2.1

Hz, 1H; 5-H_[Glc]), 3.53–3.45 (m, 1H; 5-Ha), 3.34–3.25 (m, 1H; 5-Hb), 2.81–2.71 (m, 1H; 3-Ha), 2.36–2.09 (m, 3H; 1-H_[ch]a, 11-H_[ch]), 2.08 (s, 3H; OAc), 2.04 (s, 3H; OAc), 2.03 (s, 3H; OAc), 2.02 (s, 3H; OAc), 1.88–1.10 (m, 22H; 3-Hb, 4-H, 1-H_[ch]b, 2-H_[ch], 3-H_[ch], 4-H_[ch], 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch], 8-H_[ch], 9-H_[ch], 10-H_[ch]), 1.49 (s, 9H; Boc); **¹³C-NMR (50 MHz)**: δ = 173.8 (s; CO₂H), 173.3 (s; CONH), 170.9 (s; MeCO), 170.5 (s; MeCO), 169.7 (s; MeCO), 169.5 (s; MeCO), 157.6 (s; CO BOC), 82.4 (s; C(CH₃)₃), 78.1 (d; C_[Glc]-1), 73.5 (d; C_[Glc]-5), 72.7 (d; C_[Glc]-4), 70.6 (d; C_[Glc]-2), 68.1 (d; C_[Glc]-3), 61.6 (t; C_[Glc]-6), 49.5 (t; C-5), 36.7 (t; C_[ch]-11), 34.9 (t; C-3), 34.4, 34.2, 29.6 (2C), 29.5 (2C), 29.3 (2C), 29.1, 26.2, 25.2 (t, 11C; C-2, C_[ch]-1, C_[ch]-2, C_[ch]-3, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7, C_[ch]-8, C_[ch]-9, C_[ch]-10), 28.3 (q, 3C; CH₃ Boc), 22.7 (t; C-4), 20.8 (q; CH₃CO), 20.7 (q; CH₃CO), 20.6 (q, 2C; CH₃CO); **IR**: ν = 3427, 2930, 2855, 1746, 1694, 1369, 1227, 1039; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 724 (7), 366 (9), 244 (11), 169 (87), 109 (77), 97 (55), 81 (94), 70 (34), 57 (100), 55 (80); **analisi elementare** calcolata per C₃₆H₅₈N₂O₁₄ (742.85): C 58.21, H 7.87, N 3.77; trovata: C 57.84, H 7.92, N 3.42.

(S)-terz-butil 2-(2-metossi-2-ossoetilcarbamoil)-2-ottilpirrolidina-1-carbossilato(104):



Ad una soluzione di Boc-prolina **97** (32 mg, 0.1 mmol) in CH₂Cl₂ anidro (1 mL) vengono aggiunti a 0 °C metilglicina cloridrata **103** (14 mg, 0.11 mmol), DIPEA (52 μ L, 0.3 mmol) e PyBrop (60 mg, 0.12 mmol). La miscela di reazione viene lasciata a temperatura ambiente sotto agitazione magnetica in atmosfera di N₂ per 2 giorni. Il solvente viene rimosso a pressione ridotta, viene aggiunto AcOEt ed i sali formati sono stati filtrati. La soluzione viene lavata 2 volte con una soluzione KHSO₄ al 5%, 2 volte con NaHCO₃ al 5% e poi con brine. La fase organica viene seccata su Na₂SO₄ e concentrata a pressione ridotta. Il prodotto grezzo (liquido torbido) viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: esano/AcOEt: 2/1) ottenendo il prodotto di coupling desiderato **104** (28 mg, 72% resa) come olio incolore.

104: $R_f = 0.39$ (esano/AcOEt: 2/1); $[\alpha]_D^{24} = -47.9$ ($c = 0.8$ CHCl₃); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz):** $\delta = 8.38\text{-}8.21$ (Br, 1H; NH), $6.63\text{-}6.47$ (Br, 1H; NH), $4.14\text{-}3.90$ (m, 2H; CH₂-Gly), 3.72 (s, 3H; OCH₃), $3.58\text{-}3.43$ (m, 1H; 5-Ha), $3.41\text{-}3.20$ (m, 1H; 5-Hb), $2.74\text{-}2.56$ (m, 1H; 3-Ha), $2.32\text{-}1.88$ (m, 3H; 1-H_[ch], 2-H_{[ch]a}), $1.86\text{-}1.57$ (m, 3H; 3-Hb, 4-H), 1.46 (s, 9H; Boc), $1.34\text{-}1.02$ (m, 11H; 2-H_{[ch]b}, 3-H_[ch], 4-H_[ch], 5-H_[ch], 6-H_[ch], 7-H_[ch]), 0.86 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H; 8-H_[ch]); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz):** $\delta = 175.0$ (s; CONH), 170.2 (s; CO₂H), 155.4 (s; CO Boc), 80.2 (s; C(CH₃)₃), 70.7 (s; C-2), 52.1 (q; OCH₃), 49.6 (t; C-5), 41.4 (t; CH₂(Gly)), 34.8 (t; C-3), 34.4 (t; C_[ch]-1), 31.8 , 29.8 , 29.5 , 29.3 , 22.7 (t; 7C; C-4, C_[ch]-4, C_[ch]-5, C_[ch]-6, C_[ch]-7), 28.4 (q, 3C; CH₃ Boc), 22.6 (t; C_[ch]-2), 14.1 (q; C_[ch]-8); **IR:** $\nu = 3449$, 2928 , 1749 , 1680 , 1393 , 1368 , 1657 , 1169 ; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 399 (0.12) [M⁺], 297 (1), 226 (100), 212 (22), 282 (20), 182 (69), 96 (15), 83 (16), 57 (83); **analisi elementare** calcolata per **C₂₁H₃₈N₂O₅**: (398.54): C 63.29, H 9.61, N 7.03; trovata: C 63.05, H 9.49, N 6.79.

5 SINTESI DI PROLINE α -SOSTITUITE
ATTRAVERSO REAZIONI DI *CLICK-*
CHEMISTRY

5.1 INTRODUZIONE

Nel 2001 Sharpless ha stabilito i parametri che una reazione deve possedere per essere definita di *click chemistry*: “*The reaction must be modular, wide in scope, give very high yields, generate only inoffensive byproduct that can be removed by nonchromatographic methods, and be stereospecific (but not necessary enantioselective). The required process characteristic include simple reaction conditions, readily available starting materials and reagents, the use of no solvent or a solvent that is benign (such water) or easily removed, and simple product isolation*”.⁹²

E' importante notare che le reazioni di *click chemistry*, per raggiungere tali requisiti, devono avere un'alta *driving force* termodinamica (in genere più alta di 20 kcal mol⁻¹). Questi processi, quindi, procedono rapidamente a completamento e tendono ad essere altamente selettivi verso un unico prodotto.

Le reazioni che formano legami carbonio-eteroatomi comprensive dei più comuni esempi, includono le seguenti classi di trasformazioni chimiche:

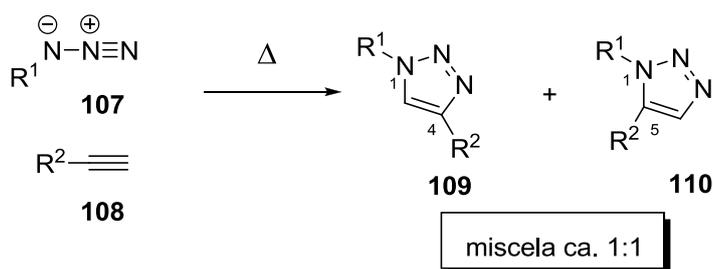
- Reazioni di cicloadizione, specialmente di tipo 1,3-dipolare, ma anche reazioni di etero Diels-Alder.
- Reazioni di apertura di anelli eterociclici elettrofili tensionati come epossidi, aziridine, ioni aziridinici e episolfonici attraverso sostituzioni nucleofile.
- Chimica dei carbonili di tipo “non-aldolico” come formazione di derivati ureici e tioureici, eterocicli aromatici, ossime, idrazoni e ammidi.
- Addizioni a legami multipli C-C, specialmente di tipo ossidativo come epossidazioni, diidrossilazioni, formazione di aziridine, ma anche alcune reazioni di addizione di Michael.

Le olefine rappresentano i prodotti di partenza più adatti per le reazioni di *click chemistry* in quanto facilmente disponibili, in grandi quantità e con una notevole varietà. Inoltre, il ruolo delle olefine è notevolmente incrementato dal loro utilizzo come precursori di intermedi a più alta energia come epossidi, aziridine, ioni aziridinici e episolfonici a loro volta possibili precursori per trasformazioni di *click chemistry*.

⁹² Per *reviews* sulla *Click Chemistry*, vedi: (a) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004. (b) Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1128. (c) Gil, M. V.; Arévalo, M. J.; López, Ó. *Synthesis* **2007**, 1589.

E' stato osservato che molte delle reazioni che rispettano i requisiti di *click chemistry* procedono più rapidamente e con rese più alte in acqua rispetto ai comuni solventi organici, particolarmente quando i reagenti risultano insolubili nel mezzo acquoso.⁹³ L'acqua, inoltre, è il solvente ideale in termini di impatto ambientale, costo e recupero del prodotto dal mezzo di reazione.

La reazione che meglio si adatta ai criteri di *click chemistry* è la cicloaddizione 1,3-dipolare tra azidi **107** ed alchini terminali **108** per dare un'unità triazolica, conosciuta come cicloaddizione di Huisgen. (Schema 29).⁹⁴



Schema 29: Cicloaddizione 1,3-dipolare di Huisgen

Nonostante queste due specie siano quelle a maggior energia, essi sono anche tra i gruppi meno reattivi in chimica organica. Sono, infatti, generalmente stabili in ambiente biologico e organico, nei confronti dell'acqua e dell'ossigeno, e nella maggior parte delle condizioni di reazione utilizzate in sintesi organica. Questa stabilità, di natura cinetica, è responsabile della scarsa reattività nelle reazioni di cicloaddizione, per cui sono necessarie elevate temperature e lunghi tempi di reazione, e dell'inerzia di questi gruppi funzionali verso molecole biologiche e condizioni di reazione in sistemi viventi.

Una buona regioselettività per la reazione di cicloaddizione di Huisgen è stata osservata solo nei casi in cui un alchino terminale altamente elettroneficiente partecipi come dipolarofilo, mentre negli altri casi si ottengono miscele di triazoli regioisomerici 1,4- e 1,5-disostituiti **109** e **110** in rapporto circa 1:1.

Nel 2002 due gruppi di ricerca hanno riportato che l'introduzione di catalizzatori di Cu(I) aumenta eccezionalmente la selettività della reazione con formazione esclusiva del regioisomero

⁹³ Norayan, S.; Muldoon, J.; Finn, M. G.; Folkin, V. V.; Kolb, H. C.; Sharpless, K. B.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3275.

⁹⁴ Huisgen, R. *1,3-Dipolar Cycloadditional Chemistry* (ED.:A. Padwa), Wiley, New York, **1984**, 1.

1,4 **109** e incrementa la velocità della reazione fino a 10^7 volte, eliminando in questo modo la necessità di impiego di alte temperature. Il processo sintetico per ottenere 1,2,3-triazoli avviene con alte rese in ambiente acquoso tra reagenti facilmente accessibili, tollera una notevole varietà di gruppi funzionali e necessita soltanto di minimi processi di *work-up* e purificazione, rappresenta, quindi, l'ideale di *click chemistry*.^{95,96}

La sorgente di ioni Cu(I) include sali di Cu(I) (tra i più comunemente impiegati CuI), complessi come CuBr(PPh₃)₃ in cui è già presente la forma Cu(I), riduzione in situ di sali di Cu(II) [in particolare rame(II) solfato] in presenza di sodio ascorbato, oppure tramite dismutazione di Cu⁰ e Cu^{II}.

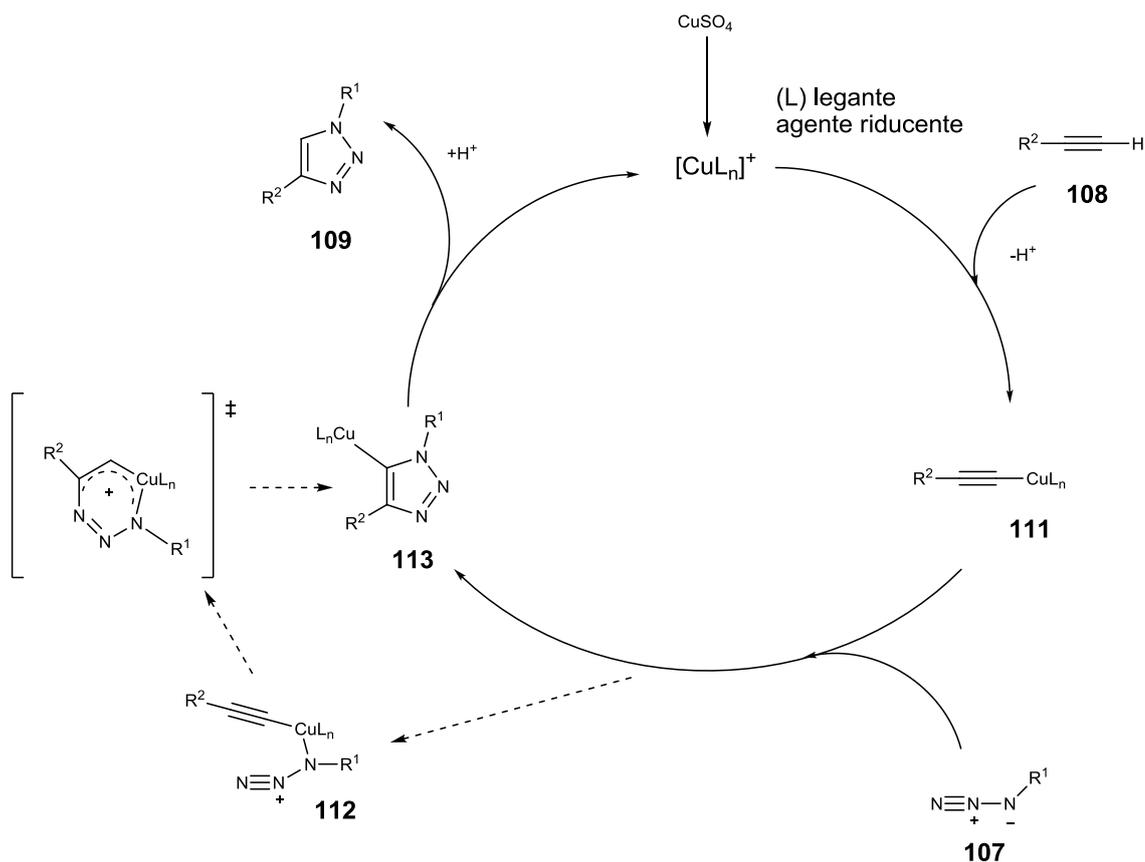
Recenti lavori hanno mostrato che ligandi azotati possono stabilizzare l'ossidazione di Cu^I in condizioni aerobiche ed in ambiente acquoso e portare alla trasformazione desiderata. Fattori sterici ed elettronici sembrano giocare un ruolo importante nel successo di tali reazioni.

Il meccanismo accettato⁹⁷ per la reazione è descritto nello **schema 30**:

⁹⁵ (a) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057. (b) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596.

⁹⁶ Per una recente *review*, vedi: Bock, V. D.; Hiemstra, H.; Van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51.

⁹⁷ Kamijo, S.; Tienan, J.; Yamamoto, Y. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 689.



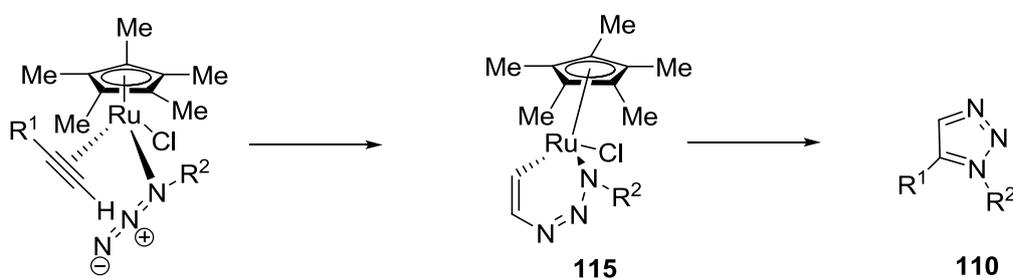
Schema 30: Schema di reazione della cicloadizione 1,3-dipolare catalizzata da ioni rameosi.

Il meccanismo per questa reazione prevede l'iniziale formazione di un complesso π tra l'alchino terminale e rame (I) **111** che induce una riduzione del pKa dell'alchino. In queste condizioni i derivati acetilenici sono abbastanza acidi per essere deprotonati in ambiente acquoso. Il complesso rame(I) acetilide **111** subisce l'attacco dell'alchilazide. Il nuovo complesso formato **112** dà luogo ad una ciclizzazione intramolecolare che porta, infine, alla formazione di un complesso rame/1,2,3-triazolo **113**. La protonazione finale rigenera il catalizzatore e il derivato 1,2,3-triazolico 4 sostituito **109**.^{95a}

Generalmente una miscela di *t*-butanolo e acqua viene usata come solvente, in queste condizioni non è necessario usare una base, l'acqua è sufficiente, infatti, per generare la specie rame-acetilide. Quando le reazioni non possono essere condotte in ambiente acquoso possono essere impiegati i comuni solventi organici (tetraidrofurano, toluene, diclorometano, acetonitrile) in presenza di quantità stechiometriche di sali di rame(I) ed un' eccesso di base, generalmente un'ammina terziaria.

Recentemente è stato sviluppato il sistema rame su carbone, un semplice, economico ed efficiente sistema catalitico impiegato nella sintesi di triazoli.⁹⁸

Recentemente, Sharpless e collaboratori hanno mostrato che complessi di rutenio come $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ **114** catalizzano la cicloaddizione 1,3-dipolare di Huisgen con una regioselettività differente rispetto ai casi in cui siano impiegati sali di $\text{Cu}(\text{I})$.⁹⁹ Il meccanismo proposto dagli stessi autori suggerisce la formazione di un intermedio ciclico a 6 termini **115** con il rutenio al suo interno da cui, in seguito a eliminazione riduttiva, si ottengono i derivati triazolici 5-sostituiti **110** (Schema 29). A differenza dai casi in cui il catalizzatore impiegato sia $\text{Cu}(\text{I})$, possono partecipare alla reazione sia alchini interni che terminali e questo porterebbe ad escludere l'ipotesi della formazione del rutenio acetilide.¹⁰⁰



Schema 31: Meccanismo di reazione della cicloaddizione 1,3-dipolare catalizzata da complessi di Ru.

I triazoli 1,4-disostituiti **109** hanno mostrato di possedere notevoli vantaggi nel campo della *medicinal chemistry*. Per esempio, tali *scaffolds* sono stabili nei confronti dell'idrolisi acida e basica, di condizioni ossidative o riduttive, e sono caratterizzati da un'elevata aromaticità. Allo stesso tempo, questi eterocicli hanno un alto momento dipolare (circa 5D) e sono in grado di partecipare attivamente alla formazione di legami ad idrogeno, dare interazioni di tipo dipolo-

⁹⁸ Lipshutz, B. H.; Taft, B. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8235.

⁹⁹ Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Folkin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998.

¹⁰⁰ Majireck, M. M.; Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8680.

dipolo o π -*stacking*. Inoltre l'anello triazolico possiede un'elevata resistenza verso la degradazione metabolica.^{92b,101}

Caratteristica fondamentale dell'unità triazolica è la sua somiglianza strutturale con il legame ammidico, mimando, a seconda dei suoi sostituenti il legame ammidico *E* o *Z*.^{101b} L'unità triazolica 1,4-disostituita risulta strutturalmente simile al legame di tipo *Z*: il doppietto elettronico dell'azoto 3 del triazolo mima quello dell'ossigeno carbonilico del legame ammidico, il legame polarizzato C(5)-H può agire come donatore di legami a idrogeno, proprio come il legame N-H nel peptide, ed il C(4) elettrofilo del triazolo è simile da un punto di vista elettronico rispetto al C carbonilico. Dato, però, che il momento dipolare totale dell'anello triazolico è maggiore rispetto a quello ammidico le sue proprietà come accettore e donatore di legami ad idrogeno saranno più marcate rispetto a quelle del legame ammidico (**Fig. 4**).

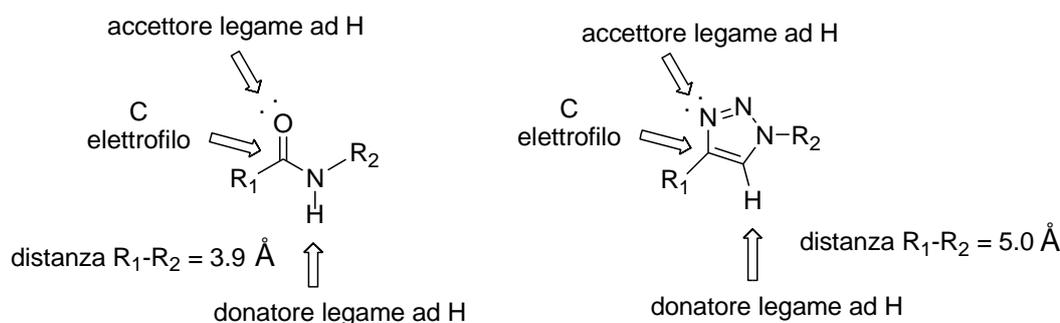


Fig. 4: Anello triazolico come bioisostere non classico di ammidi.

Studi di *molecular modeling*, inoltre, hanno suggerito che il triazolo 1,4-disostituito potrebbe avere una geometria simile a quella di un β -*turn*.¹⁰² L'impiego dei triazoli nel campo della peptidomimetica è risultato più interessante dopo che sono apparsi in letteratura articoli che mostrano come i triazol- ϵ^2 -amminoacidi possano essere validi sostituti di dipeptidi in strutture ad α -elica¹⁰³ e che gli oligomeri dei triazoli 1,4-disostituiti potrebbero mimare perfettamente la struttura dei β -*strand*.¹⁰⁴

¹⁰¹ (a) Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Genazzani, A. A. *Medicinale Research Reviews* **2008**, *2*, 278. (b) Appendino, G.; Bacchiega, S.; Minassi, A.; Cascio, M. G.; De Petrocellis, L.; Di Marzo, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9312.

¹⁰² Oh, K.; Guan, Z. *Chem. Commun.* **2006**, *29*, 3069.

¹⁰³ Horne, W. S.; Yadav, M. K.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15366.

¹⁰⁴ Amgelo, G. N.; Arora, P.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17134.

Tra gli esempi più conosciuti presenti in letteratura di strutture contenenti triazoli è possibile menzionare il tazobactame, un potente inibitore delle β -lattamasi, in cui l'anello triazolico sembra giocare un ruolo cruciale per la sua attività.¹⁰⁵ Nel campo degli antibiotici i triazoli sono stati ampiamente usati per aumentare le proprietà farmacocinetiche delle molecole desiderate. Per esempio, cefalosporine, ottenute tramite unione del *core* cefalosporinico con un'unità triazolica, se assunte per via orale mostrano una buona biodisponibilità.¹⁰⁶ Analoghi dei nucleosidi pirimidinici sono stati a lungo studiati come agenti antivirali e l'unità triazolica è stata utilizzata per sostituire l'anello pirimidinico incrementandone l'attività antivirale e citotossica.¹⁰⁷ Analoghi simili, contenenti un buon gruppo uscente, sono stati sintetizzati come agenti alchilanti nella chemioterapia contro il cancro.¹⁰⁸

¹⁰⁵ (a) Bennett, I. S.; Brooks, G.; Broom, N. J. P.; Calvert, S. H.; Coleman, K.; Francois, I. *J. Antibiotics* **1991**, *44*, 969.
(b) Bennett, I.; Broom, N. J. P.; Calvert, S.; Clarke, B. P.; Coleman, K.; Edmondson, R.; Edwards, P.; Jones, D.; Osborne, N. F.; Walker, G. *J. Antibiotics* **1991**, *44*, 331.

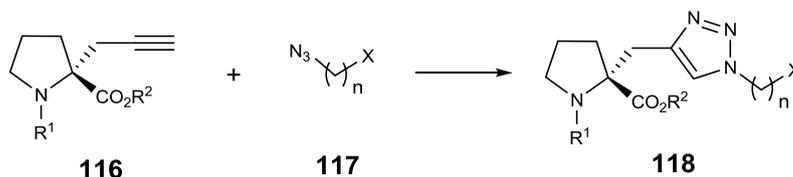
¹⁰⁶ Kume, M.; Kubota, T.; Kimura, Y.; Nakashimizu, K.; Motokawa, M.; Nakano, M. *J. Antibiotics* **1993**, *46*, 177.

¹⁰⁷ Makabe, O.; Suzuki, H.; Umezawa, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 2689.

¹⁰⁸ Alonso, R.; Camarasa, M. J.; Alonso, G.; De Las Heras, F. G. *Eur. J. Med. Chem.* **1980**, *15*, 105.

5.2 SINTESI DI PROPARGILPROLINE **119** E **120**

Nel nostro gruppo di ricerca ci siamo interessati alla cicloadizione di Huisgen tra 2-prop-2-enilproline **116** ed azidi **117** come un'utile strumento per inserire differenti catene laterali sull'anello prolinico (**Schema 30**).^{109, 110}



Schema 32

Utilizzando la metodologia della *self-reproduction of chirality*⁶⁹ di Seebach abbiamo sintetizzato nuove alchilil proline **120** aventi in 2 un gruppo terminale acetilenico pronto per essere accoppiato con un gruppo azidico **118** e con le funzioni amminica ed acida già correttamente protette per una loro applicazione nella sintesi peptidica.

Il derivato della prolina **73** è stato ottenuto da L-prolina (**72**) tramite contemporanea protezione della funzione carbossilica ed amminica con tricloroacetaldeide come precedentemente descritto.^{70,111} L'ossazolidinone **73** è stato trattato in sequenza con LDA e 3-bromoprop-1-ino in THF anidro per ottenere l'ossazolidinone **119** isolato come singolo diastereoisomero, anche se con bassa resa (resa del 24% calcolata sull'ossazolidinone convertito) (**Schema 31**). La configurazione di **119** è stata assegnata come (3R,7aR) analoga a quella in **73** dato lo stereocontrollo durante l'alchilazione dell'enolato dell'ossazolidinone.

La prolina protetta **119** è stata trattata con MeOH e trimetilsililcloruro (TMSCl) in un reattore per microonde a 40 °C per rimuovere l'unità ossazolidinonica e proteggere la funzione acida come metilestere. Il prodotto è stato trattato direttamente con Cbz-Cl in ambiente acquoso di $NaHCO_3$, a temperatura ambiente per ottenere, dopo purificazione per via cromatografica, la prolina **120**,

¹⁰⁹ Per la sintesi di differenti derivati triazolici di aminoacidi tramite cicloadizione tra azidi e alchini, vedi: (a) Yan, Z.-Y.; Niu, Y.-N.; Wei, H.-L.; Wu, L.-Y.; Zhao, Y.-B.; Liang, Y.-M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 3288. (b) Paul, A.; Bittermann, H.; Gmeiner, P. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8919. (c) Gopi, H. N.; Tirupula, K. C.; Baxter, S.; Ajith, S.; Chaiken, I. M. *Chem. med. Chem.* **2006**, *1*, 54. (d) Li, C.; Tang, J.; Xie, J. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7935. (e) Balducci, E.; Bellucci, L.; Petricci, E.; Taddei, M.; Tafi, A. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1314.

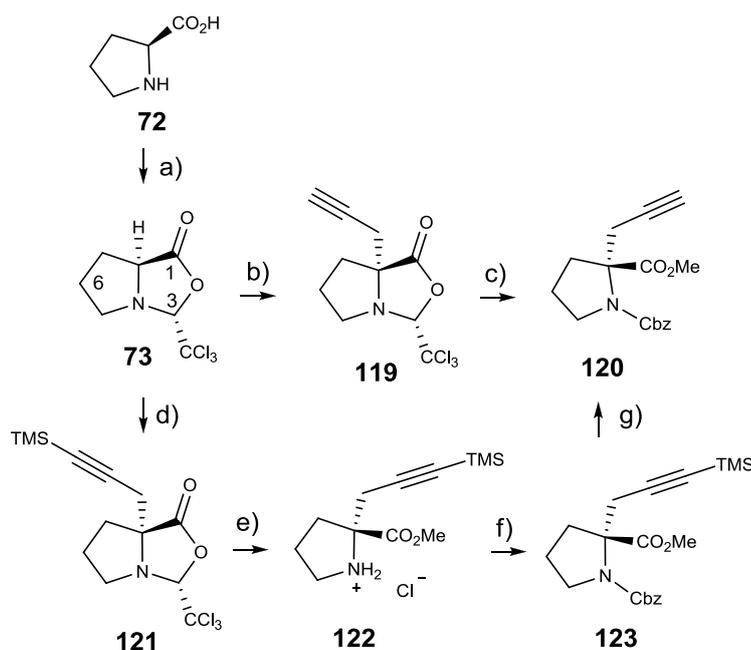
¹¹⁰ Shchetnikov, G. T.; Peredukov, A. S.; Osipov, S. N. *Synlett* **2007**, 136.

¹¹¹ (a) Poloński, T. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 603. (b) Orsini, F.; Pellizzoni, F.; Forte, M.; Sisti, M.; Bombieri, G.; Benetollo, F. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26*, 837. (c) Amedjkouh, M.; Ahlberg, P. *Tetrahedron Asymmetry* **2002**, *13*, 2229.

protetta ortogonalmente, con una resa totale da **119** del 40%. La scelta del Cbz come protettore è derivata dal fallimento nell'introduzione di gruppi più ingombranti come Boc o Fmoc.

Al fine di aumentare la resa totale del processo, è stato esaminato un approccio alternativo per la sintesi di **120**. L'introduzione della funzione propargilica su **73** con 3-bromo-1-(trimetilsilil)-1-propino, nelle stesse condizioni precedentemente descritte, è risultata più efficiente rispetto a quella con 3-bromoprop-1-ino ed il sililderivato **121**¹¹² è stato ottenuto con una resa del 42% (calcolata sulla conversione dell'ossazolidinone **73**) (**Scheme 33**).

L'idrolisi dell'ossazolidinone **121** e successiva protezione della funzione acida e di quella amminica come nel precedente caso ha portato all'ottenimento del derivato **123** con una resa del 73%. Il successivo trattamento di questo con TBAF in THF ha dato la 2-prop-2-inil-L-prolina **120** con 55% di resa (**Scheme 33**).



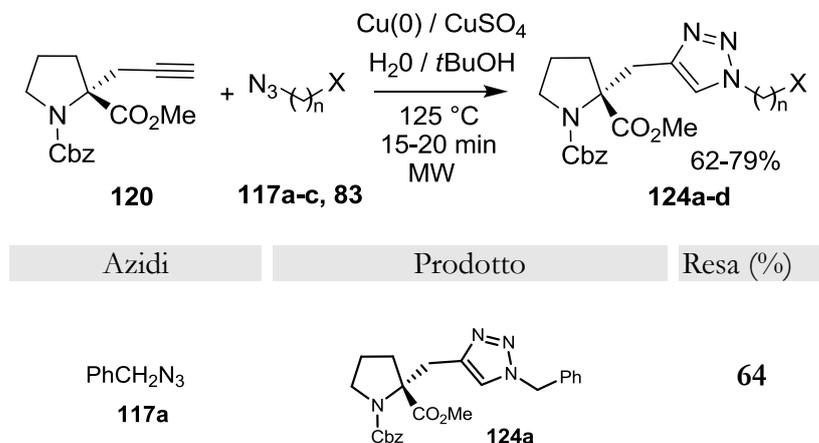
Scheme 33: Reagenti e condizioni: a) Cl_3CCHO , CH_3CN , ta, 12h, 82%. b) LDA, $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow -30\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 24% (63% conv). c) *i.* TMSCl , MeOH, MW (150 W), $40\text{ }^\circ\text{C}$; *ii.* Cbz-Cl, sat. aq. NaHCO_3 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow$ ta, 2 d, 40%. d) LDA, $\text{BrCH}_2\text{C}\equiv\text{C-TMS}$, $-78\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow -30\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 42%

¹¹² Un composto simile a **121** (gruppo amminico protetto con Boc invece che con Cbz) è stato precedentemente preparato in forma racemica tramite propargilazione di Boc-Pro-OMe: Ikeda, M.; Kugo, Y.; Kondo, Y.; Yamazaki, T.; Sato, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1997**, 1 3339.

(87% conv). e) TMSCl, MeOH, MW (150 W), 2.5 h, 40 °C, f) Cbz-Cl, sat. aq. NaHCO₃, 0 °C → ta, 12 h, 73% su due passaggi. g) 1 M TBAF, THF, 2 h, ta, 55%.

5.3 CICLOADDIZIONE 1,3-DIPOLARE DI HUISGEN

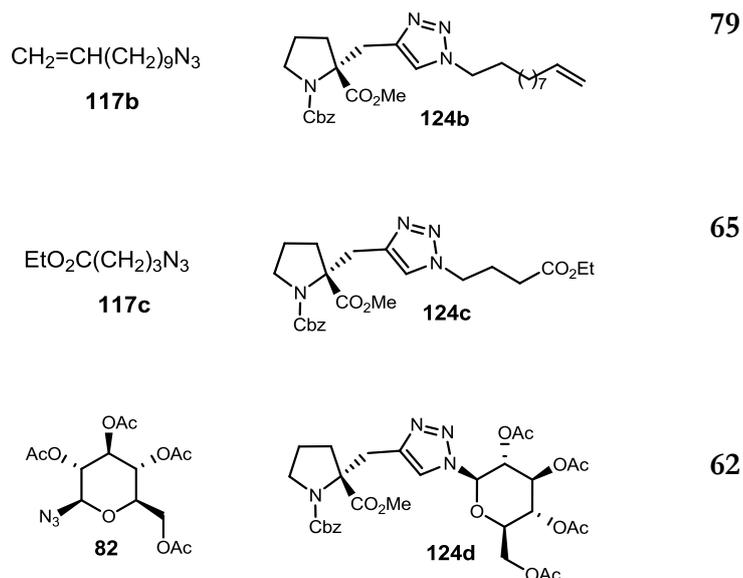
Sulla propargil prolina **120** sono state condotte reazioni di “*click cycloaddition*” con 4 differenti azidi variamente funzionalizzate **117a-d** (Tab. 3), tra cui una avente un residuo zuccherino (**117d**)¹¹³ sulla catena laterale dell’anello prolinico. Le azidi **117a** e **117c** sono state preparate dai corrispondenti bromuri con NaN₃ in DMF at 40 °C per una notte, mentre **117b** è stato ottenuto dal corrispondente mesilato dell’alcool seguendo una procedura analoga a quella appena descritta. L’azide **82** è commercialmente disponibile oppure può essere sintetizzata come riportato nel capitolo xx.⁷⁷ Le reazioni di *click chemistry* sono state condotte in un reattore per microonde su una miscela 1:1 di prolina **120** e l’appropriata azide **117** impiegando come solvente una miscela *t*BuOH-H₂O.^{109e, 114} Dopo l’aggiunta di CuSO₄ e Cu(0), che formano in situ il catalizzatore Cu(I), la miscela di reazione è stata riscaldata ad una temperatura di 125 °C tramite irraggiamento di microonde (potenza di 100 W) per 15–20 min.¹¹⁵ I corrispondenti triazoli **124a-d**, analiticamente puri, sono stati recuperati con buone rese dopo veloce purificazione per *flash chromatography* (Tab. 3).



¹¹³ (a) Alvarez, S. G.; Alvarez, M. T. *Synthesis* **1997**, 413. (b) Ju, Y.; Kumar, D.; Varma, R. S. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6697. (c) Hu, X.; Nguyen, K. T.; Jiang, V. C.; Lofland, D.; Mose, H. E.; Pei, D. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4941.

¹¹⁴ (a) Appukkuttan, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V.; Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223. (b) Khanetskyy, B.; Dallinger, D.; Kappe, C. O. *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 884. (c) Bakleh, M. E.; Sol, V.; Estieu-Gionnet, K.; Granet, R.; Délérís, G.; Krausz, P. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7385.

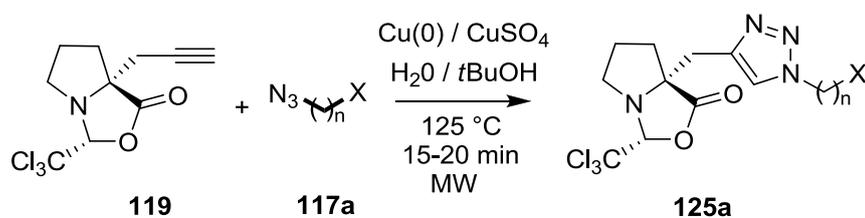
¹¹⁵ Vedi procedura di sintesi generale nella parte sperimentale.



Tab. 3: Sintesi di proline modificate attraverso cicloaddizioni su azidi catalizzate da Cu(I).

L'impiego delle microonde come metodo di riscaldamento, oltre ad incrementare le rese, riduce notevolmente i tempi di reazione (minuti rispetto ad ore). Un'altra possibile strategia sintetica per ottenere proline **124** consiste nel condurre le reazioni di *click chemistry* sul derivato propargiliosazolidinonico **119** con le medesime azidi ed in un secondo momento idrolizzare l'anello ossazolidinonico e riproteggere la funzione acida ed amminica rispettivamente come Ome e Cbz.

A causa della bassa stabilità dell'alchino ad alte temperature, però, la reazione di *click chemistry* sul derivato propargiliosazolidinonico **119**, utilizzando le stesse condizioni sperimentali impiegate per la prolina **120**, con l'azide **117a** ha portato al prodotto desiderato con bassa resa (17%) (**Schema 34**) rendendo non conveniente questa possibile via sintetica.



Schema 34

Benchè siano necessari ulteriori studi per trovare una via sintetica più efficiente per ottenere l'intermedio **120**, i dati sperimentali fin qui raccolti hanno mostrato che la reazione di cicloaddizione *click chemistry* può rappresentare un potente strumento per ottenere proline **118** variamente sostituite sul C-2.

Gli esempi ottenuti in questo studio costituiscono una piccola libreria di proline α -sostituite aventi catene laterali con gruppi funzionali che mimano le catene laterali di aminoacidi (**124a** e **124c**), residui zuccherini (**124d**)¹¹⁶ o gruppi che possono essere ulteriormente trasformati (**124b**).

Inoltre l'unità triazolica, introdotta tramite la cicloaddizione di *click chemistry*, serve come unità rigida di *linking*, ma, allo stesso tempo, risulta anche isostera ad un legame peptidico e, per la sua natura aromatica, risulta alquanto stabile.

I risultati dello studio delle cicloaddizioni di Huisgen catalizzate da Cu(I) sono stati oggetto di una pubblicazione sulla rivista *Synlett*.¹¹⁷

¹¹⁶ Per precedenti esempi di glicosilamminoacidi e peptidi aventi unità triazoliche, vedi: (a) Kuijpers, B. H. M.; Groothuys, S.; Keereweer, A. B. R.; Quaedflieg, P. J. L. M.; Blaauw, R. H.; Van Delft, F. L.; Rutjes, F. P. J. T. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3123. (b) Lin, H.; Walsh, C. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13998.

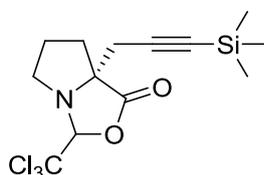
¹¹⁷ Pisaneschi, F.; Cordero, F. M.; Lumini, M.; Brandi, A. *Synlett* **2007**, *18*, 2882.

5.4 PARTE SPERIMENTALE

ACRONIMI UTILIZZATI:

Ac= acetato, Boc= *t*-butossicarbonil, Et= etil, Me= metil, Ph= fenil, THF= tetraidrofurano, LDA= litiodiisopropilammide, TMS= trimetilsilil, TBA= tetrabutilammonio, Cbz= carbobenzilossi.

(7a*R*)-3-(Triclorometil)-7a-[3-(trimetilsilil)prop-2-in-1-il]tetraidro-1*H*-pirrolo[1,2-*c*][1,3]ossazol-1-one (121):

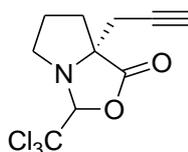


La prolina protetta (**73**, 1.23 mmol, 300 mg) viene disciolta in THF anidro (4 mL) e raffreddata a -78 °C. LDA, appena preparato aggiungendo BuLi 1.6 M (1.8 mmol, 1.42 mL) ad una soluzione di isopropilammia anidra (2.21 mmol, 314 μ L) in THF anidro (2 mL), viene aggiunto a -78 °C e la miscela di reazione, di colore giallo, viene lasciata sotto agitazione magnetica a -78 °C per 30 min e successivamente viene aggiunto il (3-bromoprop-1-inil)trimetilsilano (3.69 mmol, 577 μ L). Viene permesso alla miscela di raggiungere la temperature di -30 °C in 2 h e poi viene effettuato il *quenching* aggiungendo CHCl_3 (6 mL) e H_2O (6 mL). Le due fasi vengono separate e la fase acquosa estratta con CHCl_3 (3x6 mL). Le fasi organiche riunite vengono seccate su Na_2SO_4 e purificate tramite cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/ Et_2O : 6/1). Il prodotto puro (**121**) viene ottenuto come solido bianco (122 mg, 29% resa).

121: R_f = 0.40 (etere di petrolio/ Et_2O : 5/1); $[\alpha]_D^{25}$ = +63.6 (c = 0.4, CDCl_3); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz):** δ = 4.97 (s; 1H, 3-H), 3.40 (dd, J = 12.2, 10.6, 5.8 Hz, 1H; 5-Ha), 3.26 (br ddd, J = 12.2, 6.9, 2.6 Hz, 1H; 5-Hb), 2.81 (s, 2H; $\text{CH}_2\text{C}\equiv$), 2.39 (ddd, J = 13.5, 10.3, 7.2 Hz, 1H; 7-Ha), 2.22 (dddd, J = 13.5, 8.8, 3.3, 0.8 Hz, 1H; 7-Hb), 2.04 (dddd, J = 12.7, 7.2, 5.8, 3.3, 2.6.8 Hz, 1H; 6-Ha), 1.76 (dddd, J = 12.7, 10.6, 10.3, 8.4, 6.9 Hz, 1H; 6-Hb), 0.16 (s, 9H; SiMe_3); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz):**

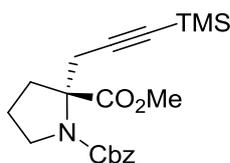
δ = 174.8 (s; C-1), 102.0 (d; C-3), 101.3 (s; $\underline{C}\equiv\text{CSi}$), 100.0 (s; $\underline{C}\text{Cl}_3$), 87.8 (s; $\text{C}\equiv\text{CSi}$), 70.9 (s; C-7a), 58.6 (t; C-5), 35.9 (t; C-7), 29.4 (t; $\underline{C}\text{H}_2\text{C}\equiv$), 25.4 (t; C-6), 0.06 (q; 3C; $\text{Si}(\underline{C}\text{H}_3)_3$); **IR**: ν = 2962, 2900, 2179, 1801, 1456, 1251, 1194, 1105; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 354 (M^+ , 0.15), 244 (88), 242 (92), 208 (14), 180 (11), 96 (100), 73 (52), 68 (41); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{Cl}_3\text{NO}_2\text{Si}$ (354.73): C 44.02, H 5.11, N 3.95; trovata: C 43.97, H 5.05, N 3.93.

(7aR)-7a-Prop-2-in-1-il-3-(triclorometil)tetraidro-1H-pirrolo[1,2-c][1,3]ossazol-1-one (119):



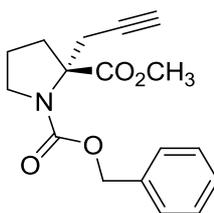
La prolina protetta (**73**, 4.5 mmol, 1.1g) viene disciolta in THF anidro (23 mL) e raffreddata a -78 °C. LDA, appena preparato aggiungendo g.a.g a -50 °C BuLi 1.6 M (6.75 mmol, 4.2 mL) ad una soluzione di isopropilammia anidra (8.1 mmol, 1.16 mL) in THF anidro (2.5 mL), viene aggiunto a -78 °C e la miscela di reazione, di colore giallo, viene lasciata sotto agitazione magnetica a -78 °C per 30 min e successivamente viene aggiunto il 3-bromoprop-1-ino (13.5 mmol, 1.02 mL). Dopo aver permesso alla miscela di raggiungere la temperature di -30 °C in 2 h viene effettuato il *quenching* aggiungendo una soluzione satura di NH_4Cl (20 mL). Le due fasi vengono separate e la fase acquosa viene estratta con Et_2O (2x15 mL), le fasi organiche riunite vengono lavate con brine, seccate su Na_2SO_4 e purificate tramite cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/ Et_2O : 4/1). Il prodotto puro **119** viene ottenuto come olio giallo (192 mg, 24% resa, 63% conversione).

119: R_f = 0.37 (etere di petrolio/ Et_2O : 4/1); $[\alpha]_D^{24}$ = +39.8 (c = 0.6, CDCl_3); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)**: δ = 5.16 (s, 1H; 3-H), 3.42 (ddd, J = 12.2, 10.7, 5.5 Hz, 1H; 5-Ha), 3.26 (ddd, J = 12.2, 6.7, 2.3 Hz, 1H; 5-Hb), 2.79 (d, J = 2.7 Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{C}\equiv$), 2.38 (ddd, J = 13.5, 10.4, 7.1 Hz, 1H; 7-Ha), 2.28–2.21 (m, 1H; 7-Hb), 2.08–1.99 (m, 1H; 6-Ha), 2.04 (t, J = 2.7 Hz, 1H; $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 1.73–1.65 (m, 1H; 6-Hb); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz)**: δ = 175.0 (s; C-1), 102.2 (d; C-3), 100.0 (s; $\underline{C}\text{Cl}_3$), 78.9 (s; $\underline{C}\equiv\text{CH}$), 71.1 (d; $\text{C}\equiv\text{CH}$), 70.7 (s; C-7a), 58.7 (t; C-5), 35.8 (t; C-7), 28.1 (t; $\underline{C}\text{H}_2\text{C}\equiv$), 25.3 (t; C-6); **IR**: ν = 3308, 2962, 2929, 2259, 1801, 1456, 1195, 1105; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 282 (0.15), 242 (58), 164 (15), 136 (72), 108 (30), 96 (100), 68 (42); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Cl}_3\text{NO}_2$ (282.55): C 42.51, H 3.57, N 4.96; trovata: C 42.56, H 3.56, N 4.86.

(R)-1-Benzil 2-metil 2-[3-(trimetilsilil)prop-2-in-1-il]pirrolidin-1,2-dicarbossilato (123):

La prolina l'alchilata **121** (0.56 mmol, 197 mg) viene dissolta in MeOH (3 mL) in un reattore per microonde e alla soluzione viene aggiunto TMSCl (2.89 mmol, 365 μ L). La miscela viene irraggiata con MW per 2.5 h a 40 °C usando una potenza di irraggiamento di 150 W, raffreddando contemporaneamente la vial con un flusso di aria compressa. La soluzione viene concentrata a pressione ridotta e l'olio giallo ottenuto viene dissolto in una soluzione satura di NaHCO₃ (3 mL) e a questa aggiunto a 0 °C carbobenzilossi cloruro (Cbz-Cl, 0.62 mmol, 87 μ L). La miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica da 0 °C a temperatura ambiente e poi a t.a. per una notte. Viene aggiunto AcOEt, le due fasi separate, la fase acquosa viene estratta con AcOEt e le fasi organiche riunite vengono seccate su Na₂SO₄. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/Et₂O: 1/1) per ottenere il prodotto **123** puro (153 mg, 73% resa, miscela di 2 rotameri a temperatura ambiente) come olio incolore.

123: R_f = 0.34 (etere di petrolio/Et₂O: 2/1); **¹H-NMR (400 MHz):** δ = 7.35–7.28 (m, 5H + 5H; Ph), 5.20 (parte A di un sistema AB, J = 12.1 Hz, 1H; OCH₂HPh), 5.17 (parte A di un sistema AB, J = 11.5 Hz, 1H; OCH₂HPh), 5.13 (parte B di un sistema AB, J = 12.7 Hz, 1H; OCH₂HPh), 5.04 (parte B di un sistema AB, J = 12.3 Hz, 1H; OCH₂HPh), 3.83–3.71 (m, 1H + 1H; 5-Ha); 3.69 (s, 3H; OMe), 3.60–3.46 (m, 1H + 1H; 5-Hb), 3.44 (s, 3H; OMe), 3.43 (d, J = 17.3 Hz, 1H; CHH-C \equiv), 3.15 (d, J = 17.3 Hz, 1H; CHH-C \equiv), 2.86 (d, J = 5.7 Hz, 1H; CHH-C \equiv), 2.82 (d, J = 5.7 Hz, 1H; CHH-C \equiv), 2.46–2.34 (m, 1H + 1H; 4-Ha), 2.17–2.02 (m, 2H + 2H; 3-Ha, 4-Hb), 2.00–1.89 (m, 1H + 1H; 3-Hb), 0.14 (s, 9H; SiMe₃), 0.11 (s, 9H; SiMe₃); **¹³C-NMR (100 MHz):** δ = 173.8, 173.6 (s; CO), 154.2, 154.0 (s; CO), 136.9, 136.2 (s; Ph), 128.44, 128.40 (d, 2C; Ph), 128.04, 128.01 (d; Ph), 127.8, 127.5 (d, 2C; Ph), 103.1, 102.6 (s; C \equiv CSi), 87.5, 86.9 (s; C \equiv CSi), 67.5, 67.1 (s; C-2), 66.8, 66.7 (t; OCH₂Ph), 52.6, 52.3 (q; OMe), 49.4, 48.6 (t; C-5), 38.0, 36.5 (t; C-3), 27.4, 26.0 (t; CH₂C \equiv), 23.5, 22.9 (t; C-4), –0.007 (q, 3C + 3C; SiMe₃); **IR:** ν = 2957, 2927, 2177, 1739, 1698, 1413, 1357, 1251; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 373 (M⁺, 2), 314 (7), 270 (9), 262 (21), 218 (38), 91 (100); **analisi elementare** calcolata per C₂₀H₂₇NO₄Si (373.52): C 64.31, H 7.29, N 3.75; trovata: C 64.10, H 7.63, N 3.83.

1-Benzil 2-metil (2*R*)-2-prop-2-in-1-pirrolidin-1,2-dicarbossilato (120):

La prolina **123** (0.21 mmol, 78 mg) viene dissolta in THF (5 mL) e TBAF 1 M (0.31 mmol, 312 μ L) viene aggiunto g.a.g. La miscela viene tenuta sotto agitazione magnetica a t.a. per 2 h, poi il solvente viene rimosso a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene dissolto in CH_2Cl_2 e H_2O e le due fasi separate. La fase acquosa viene estratta due volte con CH_2Cl_2 e le fasi organiche riunite vengono seccate su Na_2SO_4 . Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/ Et_2O : 1/1) per ottenere il prodotto puro **120** (34.5 mg, 55% resa, miscela di due rotameri a t.a.) come olio incolore.

120: $R_f=0.37$ (etere di petrolio/ Et_2O : 1/1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta=$ 7.37–7.25 (m, 5H + 5H; Ph), 5.21 (d, $J=$ 12.3 Hz, 1H; OCH_2HPh), 5.17 (parte A di un sistema AB, $J=$ 12.5 Hz, 1H; OCH_2HPh), 5.13 (parte B di un sistema AB, $J=$ 12.5 Hz, 1H; OCH_2HPh), 5.03 (d, $J=$ 12.3 Hz, 1H; OCH_2HPh), 3.84–3.78 (m, 1H; 5-Ha), 3.78–3.72 (m, 1H; 5-Ha); 3.70 (s, 3H; OMe), 3.63–3.53 (m, 1H + 1H; 5-Hb), 3.45 (s, 3H; OMe), 3.38 (dd, $J=$ 17.2, 2.7 Hz, 1H; $\text{CHH-C}\equiv$), 3.10 (dd, $J=$ 17.2, 2.5 Hz, 1H; $\text{CHH-C}\equiv$), 2.89 (dd, $J=$ 17.2, 2.7 Hz, 1H; $\text{CHH-C}\equiv$), 2.84 (dd, $J=$ 17.2, 2.5 Hz, 1H; $\text{CHH-C}\equiv$), 2.45–2.36 (m, 1H + 1H; 3-Ha), 2.19–2.09 (m, 1H + 1H; 3-Hb), 2.08–2.00 (m, 1H + 1H; 4-Ha), 2.00–1.90 (m, 2H + 2H; 4-Hb, $\equiv\text{CH}$); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, 110°C , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): $\delta=$ 7.40–7.28 (m, 5H; Ph), 5.09 (br s, 2H; CH_2Ph), 3.66 (ddd, $J=$ 10.2, 7.8, 5.3 Hz, 1H; 5-Ha), 3.59 (br s, 3H; OMe), 3.51 (dt, $J=$ 10.2, 7.3 Hz, 1H; 5-Hb), 3.17–3.05 (m, 1H; $\text{CHH-C}\equiv$), 2.81 (dd, $J=$ 17.0, 2.6 Hz, 1H; $\text{CHH-C}\equiv$), 2.64 (t, $J=$ 2.6 Hz, 1H; $\equiv\text{CH}$), 2.32 (m, 1H; 3-Ha), 2.15 (m, 1H; 3-Hb), 2.07–1.97 (m, 1H; 4-Ha), 1.96–1.89 (m, 1H; 4-Hb); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz): $\delta=$ 173.6, 173.5 (s; CO_2Me), 154.3, 153.9 (s; NCO), 136.8, 136.2 (s; Ph), 128.5, 128.4 (d, 2C; Ph), 128.11, 128.07 (d; Ph), 127.8, 127.5 (d, 2C; Ph), 80.4, 79.9 (s; $\text{C}\equiv\text{CH}$), 70.8, 70.4 (d; $\text{C}\equiv\text{CH}$), 67.3, 66.6 (s; C-2), 67.2, 66.7 (t; OCH_2Ph), 52.6, 52.4 (q; OMe), 49.3, 48.5 (t; C-5), 37.9, 36.3 (t; C-3), 26.1, 24.7 (t; $\text{CH}_2\text{C}\equiv$), 23.4, 22.8 (t; C-4); **IR:** $\nu=$ 3308, 2955, 2101, 1739, 1699, 1413, 1357; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 301 (M^+ , 7), 262 (12), 242 (47), 218 (31), 198 (43), 166 (8), 91 (100); **analisi**

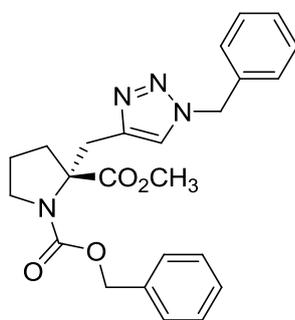
elementare calcolata per $C_{17}H_{19}NO_4$ (301.34): C 67.76, H 6.36, N 4.65; trovata: C 67.57, H 6.63, N 4.93.

Procedure generali per le reazioni di Click Chemistry:

La prolina **120** o **119** (1 equiv) e le azidi (1.2 equiv.) **82** e **117a-c** vengono aggiunte ad una miscela 1:1 di H_2O e *t*-BuOH (0.66 M ciascuno) in una vial per microonde. A questa soluzione vengono aggiunti rame in trucioli (0.2 equiv.) e solfato di rame (0.7 equiv.) e la miscela viene irraggiata tramite MW per 10–20 minuti a 125 °C, con una potenza d'irraggiamento di 100 W e contemporaneo raffreddamento mediante aria compressa (metodo *while cooling*). Dopo aver verificato il termine della reazione via TLC, vengono aggiunti H_2O e CH_2Cl_2 e le due fasi vengono separate. La fase acquosa viene estratta due volte con CH_2Cl_2 e le fasi organiche, riunite, seccate su Na_2SO_4 . I prodotti **124a-d** analiticamente puri vengono ottenuti dopo purificazione mediante cromatografia su gel di silice dei corrispondenti prodotti grezzi di reazione.

1-Benzil 2-metil (2*R*)-2-[(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil]pirrolidin-1,2-dicarbossilato

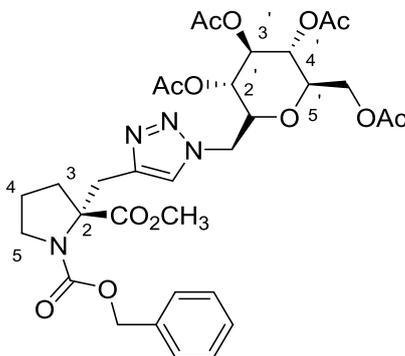
(**124a**):



124a: Resa= 64%; R_f = 0.13 (etere di petrolio/ Et_2O : 1/2); 1H -NMR (400 MHz): δ = 7.39–7.20 (m, 8H + 8H; Ph), 7.25–7.23 (m, 1H + 1H; Ph), 7.16–7.08 (m, 1H + 1H; Ph), 6.97 (s, 1H; CH=N), 6.78 (s, 1H; CH=N), 5.43 (parte A di un sistema AB, J = 14.9 Hz, 1H; PhCHHO), 5.36 (parte B di un sistema AB, J = 14.9 Hz, 1H; PhCHHO), 5.36 (s, 2H; PhCH₂O), 5.13 (parte A di un sistema AB, J = 12.1 Hz, 1H; PhCHH-triaz), 5.12 (parte A di un sistema AB, J = 12.5 Hz, 1H; PhCHH-triaz), 5.08 (parte B di un sistema AB, J = 12.1 Hz, 1H; PhCHH-triaz), 5.01 (parte B di un sistema AB, J = 12.5 Hz, 1H; PhCHH-triaz), 3.73 (s, 3H; OMe), 3.68 (d, J = 14.4 Hz, 1H;

CHH-C=), 3.64–3.52 (m, 2H; 5-Ha), 3.53 (s, 3H; OMe), 3.43 (parte A di un sistema AB, $J= 14.6$ Hz, 1H; CHH-C=), 3.78 (d, $J= 14.4$ Hz, 1H; CHH-C=), 3.37 (parte B di un sistema AB, $J= 14.6$ Hz, 1H; CHH-C=), 2.99–2.89 (m, 2H; 5-Hb), 2.46–2.39 (m, 2H; 3-Ha), 2.11–2.04 (m, 2H; 3-Hb), 1.81–1.68 (m, 2H; 4-Ha), 1.45–1.31 (m, 2H; 4-Hb); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz): $\delta= 174.3, 174.1$ (s; CO), 154.3, 154.0 (s; CO), 143.6, 143.4 (s; triaz), 137.0, 136.3 (s; Ph), 135.04, 134.95 (s; Ph), 129.0, 128.9 (d, 2C; Ph), 128.7, 128.6 (d; Ph), 128.53, 128.50 (d, 2C; Ph), 128.4, 128.3 (d; Ph), 128.03, 128.00 (d; 2C; Ph), 127.6, 127.5 (d; 2C; Ph), 123.4, 123.0 (d; triaz), 68.2, 67.4 (s, C-2), 67.2, 66.6 (t; NCH₂triaz), 53.9, 53.8 (t; OCH₂Ph), 52.5, 52.3 (q; OMe), 49.1, 48.2 (t; C-5), 37.0, 35.6 (t; C-3), 31.0, 29.5 (t; CH₂C=), 22.7, 22.3 (t; C-4); **IR**: $\nu= 2954, 1738, 1697, 1413, 1354$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 434 (M⁺, 36), 375 (10), 299 (14), 258 (67), 218 (40), 91 (100); **analisi elementare** calcolata per C₂₄H₂₆N₄O₄ (434.49): C 66.34, H 6.03, N 12.89; trovata: C 65.95, H 6.38, N 12.69.

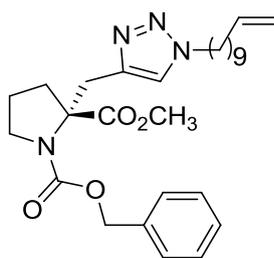
(R)-1-Benzil 2-metil 2-((1-(((2R,3S,4R,5R,6R)-3,4,5-triacetossi-6-(acetossimetil)tetraidro-2H-piran-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (124d):



124d: Resa= 62%; $R_f= 0.25$ (Et₂O); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta= 7.42\text{--}7.33$ (m, 5H + 5H; Ph), 7.36 (s, 1H; CH=N), 7.24 (s, 1H; CH=N), 5.75 (m, 1H; 1'-H), 5.70 (m, 1H; 1'-H), 5.42–5.32 (m, 2H + 2H; 2'-H, 3'-H), 5.27–5.00 (m, 1H + 1H; 4'-H), 5.23 (d, $J= 12.4$ Hz, 1H; CHHPh), 5.16 (sistema AB, 2H; CH₂Ph), 5.08 (d, $J= 12.4$ Hz, 1H; CHHPh), 4.31–4.08 (m, 2H + 2H; CH₂OAc), 3.94 (td, $J= 10.5, 2.3$ Hz, 1H; 5'-H), 3.93 (td, $J= 10.5, 2.3$ Hz, 1H; 5'-H), 3.74 (s, 3H; OMe), 3.67 (sistema AB, 2H; CH₂C=N), 3.68–3.55 (m, 1H + 1H; 5-Ha), 3.51 (s, 3H; OMe), 3.45 (sistema AB, 2H; CH₂C=N), 3.42 (sistema AB, 2H; CH₂C=N), 3.05–3.11 (m, 1H; 5-Hb), 2.97–3.03 (m, 1H; 5-Hb), 2.33–2.24 (m, 1H + 1H; 3-Ha), 2.10–2.00 (m, 1H + 1H; 3-Hb), 2.09 (s, 3H; COCH₃), 2.06 (s, 3H + 3H; COCH₃), 2.033 (s, 3H; COCH₃), 2.028 (s, 3H; COCH₃), 2.02 (s, 3H; COCH₃),

1.84 (s, 3H; COCH₃), 1.82 (s, 3H; COCH₃), 1.80–1.74 (m, 1H + 1H; 4-Ha), 1.45–1.35 (m, 1H + 1H; 4-Hb); ¹³C-NMR (100 MHz): δ= 174.2, 174.0 (s; CO₂Me), 170.4, 170.3, 169.9 (x2), 169.3 (x2), 168.7, 168.6 (s, 4C; C=O), 154.3, 154.0 (s; CON), 144.0, 143.8 (s; C=N), 136.9, 136.3 (s; Ph), 128.7, 128.6 (d, 2C; Ph), 128.5, 128.09 (d, 2C; Ph), 128.3, 128.15 (d; Ph), 121.9, 121.7 (d; CH=N), 85.6, 85.5 (d; C-1'), 75.0, 74.9 (d; C-5'), 72.7, 72.6, 70.3, 70.2 (d, 2C; C-2', C-3'), 68.0, 67.7 (s; C-2), 67.7, 67.2 (d; C-4'), 67.2, 66.8 (t; CH₂Ph), 61.5, 61.4 (t; CH₂OAc), 52.5, 52.3 (q; OMe), 48.9, 48.0 (t; C-5), 37.0, 35.4 (t; C-3), 30.3, 29.7 (t; CH₂C=N), 22.8, 22.3 (t; C-4), 20.6, 20.54, 20.48 (x2), 20.46 (x2), 20.04, 20.03 (q, 4C; COCH₃); IR: ν= 2954, 1738, 1697, 1413, 1354; MS (70 eV, EI): m/z (%)= 674 (M⁺, 4), 643 (0.05), 615 (1), 539 (2), 344 (1), 331 (9), 218 (30), 91 (100).

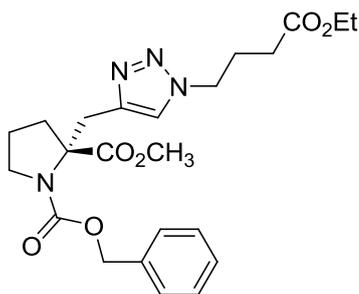
1-Benzil 2-metil (2R)-2- [(1-undec-10-en-1-il-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]pirrolidin-1,2-dicarbossilato (124b):



124b: Resa= 79% *R*_F= 0.14 (etere di petrolio/Et₂O: 1/2); ¹H-NMR (400 MHz): δ = 7.41–7.26 (m, 5H + 5H; Ph), 6.97 (s, 1H; CH=N), 6.92 (s, 1H; CH=N), 5.80 (m, 1H + 1H; CH=CH₂), 5.26 (d, *J*= 12.4 Hz, 1H; CHHPh), 5.21 (parte A di un sistema AB, *J*= 12.0 Hz, 1H; CHHPh), 5.12 (parte B di un sistema AB, *J*= 12.0 Hz, 1H; CHHPh), 5.03 (d, *J*= 12.4 Hz, 1H; CHHPh), 4.98 (dq, *J*= 17.1, 1.7 Hz, 1H + 1H; CH=CH₂), 4.92 (dm, *J*= 10.1 Hz, 1H + 1H; CH=CH₂), 4.19 (t, *J*=7.3 Hz, 1H+1H; NCH₂), 4.13 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H+1H; NCH₂), 3.74 (s, 3H; OMe), 3.68 (d, *J*= 14.7 Hz, 1H; CHHC=N), 3.66–3.56 (m, 1H + 1H; 5-Ha), 3.56 (s, 3H; OMe), 3.47 (d, *J*= 14.7 Hz, 1H; CHHC=N), 3.39 (d, *J*= 14.4 Hz, 1H + 1H; CHHC=N), 3.02–2.94 (m, 1H + 1H; 3-Ha), 2.12–1.99 (m, 3H + 3H; 3-Hb, CH₂CH=), 1.85–1.68 (m, 3H + 3H; 3-Hb, catena alchilica), 1.50–1.43 (m, 1H + 1H; 4-Hb), 1.40–1.33 (m, 3H + 3H; catena alchilica), 1.33–1.17 (m, 10H + 10H; catena alchilica); ¹³C-NMR (100 MHz): δ= 174.4, 174.1 (s; CO₂Me), 154.3, 154.0 (s; CON), 143.0, 142.7 (s; C=N), 139.12, 139.10 (s; Ph), 137.1, 136.4 (d; CH=CH₂), 128.8, 128.6 (d, 2C; Ph),

128.4, 128.3 (s, 2C; Ph), 128.3, 128.0 (s; Ph), 123.1, 122.7 (d; CH=N), 114.2 (t, 1C + 1C; =CH₂), 68.2, 67.4 (s; C-2), 67.2, 66.6 (t; CH₂Ph), 52.5, 52.4 (q; OMe), 50.2, 50.1 (t; NCH₂), 49.1, 48.2 (t; C-5), 37.0, 35.6 (t; C-3), 33.7, (t, 1C + 1C; CH₂C=), 31.0, 29.5 (t; C-4), 30.30, 30.28 (t; C-4), 29.3 (t, 2C + 2C; catena alchilica), 29.0 (t, 2C + 2C; catena alchilica), 28.93, 28.86 (t; catena alchilica), 26.4, 26.3 (t; catena alchilica), 22.7, 22.3 (t; catena alchilica); **IR**: ν = 2929, 2856, 1738, 1696, 1639, 1412, 1354; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 497 (M⁺, 14), 496 (16), 437 (6), 361 (6), 320 (54), 218 (24), 91 (100); **analisi elementare** calcolata per C₂₈H₄₀N₄O₄ (496.64): C 67.71, H 8.12, N 11.28; trovata: C 67.42, H 8.48, N 11.46.

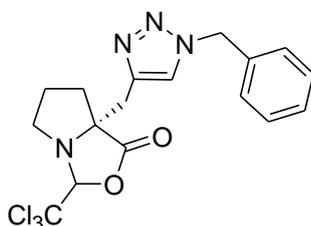
1-Benzil 2-metil (2R)-2-[[1-(4-etossi-4-ossobutil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil]pirrolidin-1,2-dicarbossilato (124c):



124c: Resa= 65%; **R_f**= 0.28 (etere di petrolio/Et₂O: 1/1); **¹H-NMR (400 MHz)**: δ = 7.42–7.31 (m, 5H + 5H; Ph), 6.94 (s, 1H; CH=N), 6.80 (s, 1H; CH=N), 5.23 (d, J = 12.4 Hz, 2H; CH₂HPh), 5.20 (parte A di un sistema AB, J = 12.0 Hz, 1H; CH₂HPh), 5.13 (parte B di un sistema AB, J = 12.0 Hz, 1H; CH₂HPh), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H; CH₂HPh), 4.27 (t, J = 7.3 Hz, 1H; NCH₂), 4.22 (t, J = 7.2 Hz, 1H; NCH₂), 4.14 (q, J = 7.0 Hz, 2H+2H; CH₂CH₃), 3.74 (s, 3H; OMe), 3.67 (d, J = 14.6 Hz, 1H; CH₂H_C=N), 3.66–3.56 (m, 1H + 1H; 5-Ha), 3.56 (s, 3H; OMe), 3.47 (d, J = 14.6 Hz, 1H; CH₂H_C=N), 3.39 (d, J = 14.6 Hz, 1H + 1H; CH₂H_C=N), 2.47–2.37 (m, 1H + 1H; 3-Ha), 2.28–2.20 (m, 2H + 2H; catena alchilica), 2.15–2.02 (m, 3H + 3H; 3-Hb, catena alchilica), 1.83–1.72 (m, 1H + 1H; 4-Ha), 1.50–1.43 (m, 1H + 1H; 4-Hb), 1.26 (t, J = 7.0 Hz, 3H; CH₂CH₃), 1.24 (t, J = 7.0 Hz, 3H; CH₂CH₃); **¹H-NMR (400 MHz, 110° C, (CD₃)₂SO)**: δ = 7.52 (s, 1H; CH=N), 7.42–7.29 (m, 5H; Ph), 5.12 (s, 2H; CH₂Ph), 4.34 (t, J = 6.9 Hz, 2H; NCH₂), 4.08 (q, J = 7.1 Hz, 2H; CH₂CH₃), 3.63 (br s, 3H; OMe), 3.58–3.46 (m, 2H; C(2)CH₂H + 5-Ha), 3.23 (d, J = 14.6 Hz, 1H;

C(2)CHH), 3.10–3.02 (m, 1H; 5-Hb), 2.32–2.24 (m, 1H; 3-Ha), 2.27 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H; CH₂CO₂Et), 2.10–2.02 (m, 3H; 3-Hb + CH₂CH₂CO₂Et), 1.79–1.67 (m, 1H; 4-Ha), 1.41–1.29 (m, 1H; 4-Hb), 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H; CH₂CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz): $\delta = 174.4, 174.1$ (s; C=O), 172.2 (s, 1C+1C; C=O), 154.3, 154.0 (s; CON), 143.3, 143.0 (s; C=N), 137.1, 136.3 (s; Ph), 128.8, 128.6 (d, 2C; Ph), 128.5, 128.4 (d, 2C; Ph), 128.3, 128.0 (d; Ph), 123.3, 123.0 (d; CH=N), 68.2, 66.6 (s; C-2), 67.4, 67.2 (t; CH₂Ph), 60.7, 60.6 (t; CH₂CH₃), 52.5, 52.4 (q; OMe), 50.2, 50.1 (t; NCH₂), 49.1, 48.2 (t; C-5), 37.0, 35.6 (t; C-3), 33.7, (t, 1C + 1C; CH₂C=N), 31.0, 29.5 (t; C-4), 25.5 (t, 1C + 1C; catena alchilica), 22.7, 22.3 (t; catena alchilica), 14.2 (q, 1C + 1C; CH₂CH₃); IR: $\nu = 2983, 2955, 2882, 1732, 1696, 1601, 1413, 1354, 1210$; MS (70 eV, ED): m/z (%) = (M⁺, 8), 413 (5), 323 (3), 282 (32), 197 (6), 115 (19), 91 (100); **analisi elementare** calcolata per C₂₃H₃₀N₄O₆ (458,51): C 60.25, H 6.59, N 12.22; trovata: C 59.98, H 6.90, N 11.98.

(7aR)-7a-[(1-Benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]-3-(triclorometil)tetraidro-1H-pirrolo[1,2-c][1,3]ossazol-1-one (125):



125: Resa = 17%; **R_f** = 0.12 (etere di petrolio/Et₂O: 1/2); ¹H-NMR (400 MHz): $\delta = 7.46$ (s, 1H; =CHN), 7.36–7.32 (m, 3H; Ph), 7.28–7.22 (m, 2H; Ph), 5.59 (parte A di un sistema AB, $J = 14.7$, Hz 1H; CHHPh), 5.45 (parte B di un sistema AB, $J = 14.7$, Hz, 1H; CHHPh), 4.93 (s, 2H; 3-H), 3.31 (parte A di un sistema AB, $J = 14.4$, Hz 1H; CHH-C-7a), 3.16 (parte B di un sistema AB, $J = 14.4$, Hz 1H; CHH-C-7a), 2.99 (ddd, $J = 12.3, 6.8, 2.7$ Hz, 1H; 5-Ha), 2.48 (ddd, $J = 12.3, 10.6, 5.7$ Hz, 1H; 5-Hb), 2.28–2.14 (m, 2H; 7-H), 1.66–1.54 (m, 1H; 6-Ha), 1.54–1.45 (m, 1H; 6-Hb); ¹³C-NMR (100 MHz): $\delta = 175.8$ (s; C-1), 142.3 (s; =CN), 134.8 (s; Ph), 129.1 (d, 2C; Ph), 128.7 (d; Ph), 127.9 (d, 2C; Ph), 123.8 (d; =CHN), 102.3 (d; C-3), 100.2 (d; CCl₃), 71.2 (s; C-7a), 58.3 (t; C-5), 54.1 (t; CH₂Ph), 35.5 (t; C-7), 33.1 (t; CH₂-C-7a), 24.9 (t; C-6); IR: $\nu = 2958, 1802, 1457, 1194,$

1105; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 416 (0.43), 379 (46), 242 (70), 173 (74), 96 (86), 91 (100), 68 (38).

6 SINTESI DI β -OMOPROLINE E
TRIPETIDI MIRATI ALL'ATTIVITA'
ANTIVIRALE

6.1 INTRODUZIONE

Il *virus dell'immunodeficienza umana* (HIV) è diventato rapidamente uno dei più letali virus del mondo.¹¹⁸

L'HIV è l'agente eziologico della *sindrome d'immunodeficienza acquisita* (AIDS), caratterizzata da manifestazioni cliniche estremamente variabili, tra cui un grave stato di immunodeficienza, che si accompagna all'insorgenza di infezioni opportunistiche e tumori, da grave deperimento organico e manifestazioni degenerative a carico del sistema nervoso centrale. L'HIV infetta un'ampia gamma di cellule del sistema immunitario, tra cui linfociti T *helper*, esponenti CD4, macrofagi e cellule dendritiche.

L'HIV, isolato nel 1983,¹¹⁹ è un retrovirus appartenente alla famiglia dei **lentivirus**. Sono stati identificati due tipi di HIV strettamente correlati tra loro, ma diversi per struttura genomica ed antigenicità (HIV-1 ed HIV-2). L'HIV-1 è senza dubbio la causa più comune di AIDS, ma anche l'HIV-2 è in grado di provocare tale sindrome. Una particella infettante di HIV consiste di due eliche identiche di RNA, contenute all'interno di un nucleo di proteine virali circondato a sua volta da un guscio (*envelope*) a doppio strato lipidico, derivante dalla membrana della cellula ospite ma contenente anche proteine codificate dal genoma virale.¹²⁰

L'RNA retrovirale viene poi trascritto, ad opera dell'enzima trascrittasi inversa, in DNA, il quale viene integrato nel genoma dell'ospite ed espresso dalla cellula infettata, sotto il controllo dei geni virali.¹²¹

Il genoma dell'HIV contiene nove geni, con importanti differenze tra HIV-1 e HIV-2.

Come altri retrovirus entrambi i virus contengono i geni *gag*, *pol* e *env*.¹²² La sequenza *gag* (*group-specific antigen*) codifica le proteine strutturali del nucleo virale (*core*). Le sequenze *env* codificano le glicoproteine dell'*envelope*, gp120 e gp41, indispensabili per l'infezione della cellula bersaglio. Le sequenze *pol* codificano tre enzimi retrovirali essenziali: proteasi, trascrittasi inversa e integrasi.^{123,124}

¹¹⁸ (a) Del Mar Yust, M.; Pedroche, J.; Megias, C.; Giròn-Calle, J.; Alaiz, M.; Millàn, F.; Vioque, J. *Food Chemistry* **2004**, *87*, 387. (b) Mitsuya, H.; Yarchoan, R.; Broder, S. *Science* **1990**, *249*, 1533.

¹¹⁹ Magden, J.; Kääriäinen, L.; Ahola, T. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *66*, 612.

¹²⁰ (a) Dunn, B. M.; Goodenow, M. M.; Gustchina, A.; Wlodawer, A. *Genome Biology* **2002**, *3*, 3006. (b) Abbas, A. K.; Lichtman, A. H.; Pober, J. S. *Immunologia cellulare e molecolare*. Piccin Nuova Libreria **2002**, 484.

¹²¹ Tomasselli, A.G.; Heinrikson, R.L. *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1477*, 189.

¹²² Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N.; Ginsberg, H. S. *Microbiologia*. Zanichelli **1996**, 1164.

¹²³ (a) Abbas A. K. *Fondamenti di immunologia*. Piccin Nuova Libreria, **2003**, 250. (b) Todd, S.; Anderson, C. G.; Jolly, D. J.; Craik, C. S. *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1477*, 168.

¹²⁴ Abdel-Rahman, H. M.; Rimura, T.; Hidaka, K.; Kiso, A.; Nezami, A.; Freire, E.; Hayashi, Y.; Kiso, Y. *Biol. Chem.* **2004**, *385*, 1035.

La proteasi è un enzima cruciale per l'HIV: spetta ad esso processare il precursore poliproteico *gag* e *gag-pol* in proteine mature e funzionali. L'attività proteolitica di questo enzima è essenziale per l'attività del virus: la sua inibizione blocca la maturazione, la replicazione e l'infettività virale, offrendo la possibilità di una terapia antivirale.¹²⁵

Gli inibitori della proteasi dell'HIV, entrati sul mercato a partire del 1995, si sono dimostrati agenti terapeutici preziosi, in combinazione con inibitori, nucleotidici e non-nucleotidici, della trascrittasi inversa (rispettivamente, NRTI e NNRTI) nel trattamento dell'AIDS. Tale efficace associazione terapeutica è nota come HAART: *Highly Active Antiretroviral Therapy*. Purtroppo, spesso il virus va incontro a mutazioni che portano alla farmaco-resistenza, e ciò spinge ad intensi sforzi per la ricerca di nuovi composti chimici ad attività antivirale.¹²⁶

La proteasi retrovirale viene classificata come aspartato-proteasi sulla base della similitudine della sequenza del sito attivo e dell'analogia strutturale con le proteasi aspartiche monomeriche precedentemente caratterizzate, come per esempio, renina e pepsina.¹²⁷

Il meccanismo catalitico della proteasi dell'HIV dipende dalla presenza nel sito attivo di un residuo di acido aspartico protonato e uno non protonato. Una molecola di acqua tra Asp-25 e Asp-25' agisce come nucleofilo catalitico per l'attacco al legame peptidico (**Fig. 5**).¹²⁴

Probabilmente, la caratteristica più importante della proteasi dell'HIV, è la sua notevole specificità, e sono stati compiuti numerosi studi per capire quali elementi di una sequenza peptidica la definiscano come substrato.¹²¹ La specificità della proteasi retrovirale per il substrato è stata studiata attraverso varie tecniche che comprendono strutture cristallografiche della proteasi dell'HIV con inibitori peptidici, modellistica molecolare e misurazioni cinetiche.

¹²⁵ Vinkers, H. M.; De Jonge, M. R.; Daeyaert, F. D.; Heeres, J.; Koymans, L. M. H.; Van Lenthe, J. H.; Lewi, P. J.; Timmerman, H.; Janssen, P. A. J. *Comput. Aided Mol. Des.* **2003**, *17*, 567.

¹²⁶ Ax, A.; Schaal, W.; Vrang, L.; Samuelsson, B.; Hallberg, A.; Karlén, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 755.

¹²⁷ Hoog, S. S.; Abdel-Meguid, S. S. J. *Mol. Struct. (Theochem)* **1998**, *423*, 59.

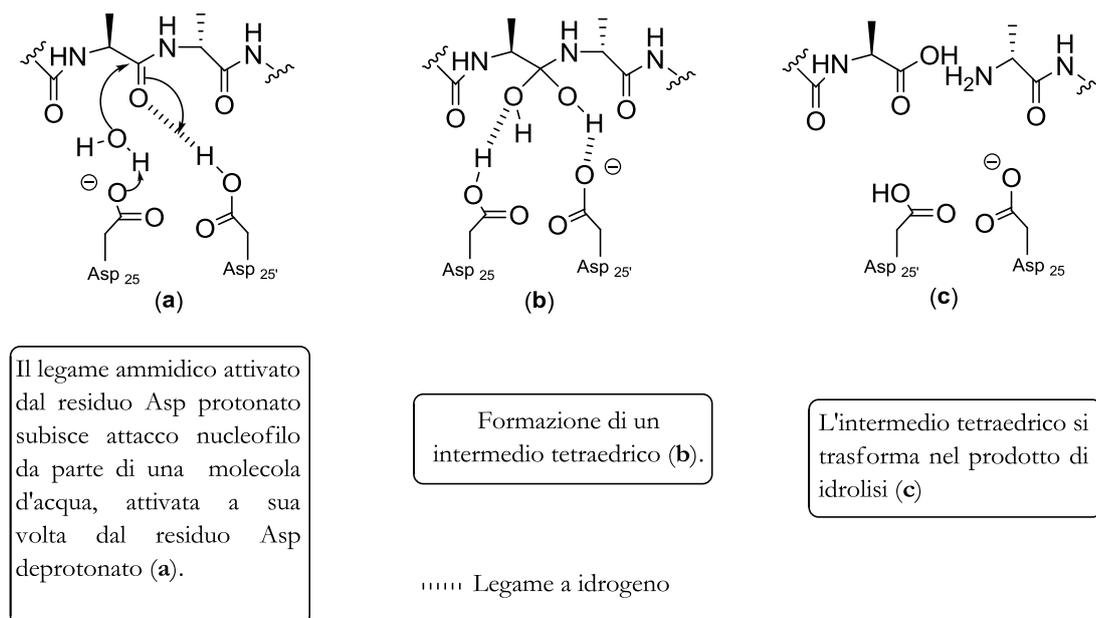


Fig.5: Meccanismo catalitico dell'aspartato proteasi.

Le proteasi retrovirali sono altamente specifiche per i propri precursori poliproteici e per peptidi che contengono i siti di distacco. La catalisi è più efficiente per peptidi di sette residui che si estendono da P4 a P3' dove il legame da scindere si trova tra P1 e P1', utilizzando la nomenclatura standard. Sono state riportate misure cinetiche relative all'idrolisi da parte della proteasi retrovirale di peptidi con una serie di sostituzioni di singoli aminoacidi. Queste misure hanno definito gli aminoacidi che formano i migliori substrati, in una particolare sequenza peptidica, per ogni posizione da P4 a P3'.

Sono state, inoltre, determinate strutture cristallografiche della proteasi retrovirale da sola o complessata con diversi inibitori. L'analisi di queste strutture e di modelli molecolari è stata usata per prevedere come i substrati si legano alla proteasi dell'HIV. Inibitori e, analogamente, substrati peptidici, si legano in una conformazione estesa, tra gli acidi aspartici catalitici e due "flaps" flessibili, che si trovano sopra il sito attivo della proteasi. Vi sono legami idrogeno conservati tra i gruppi NH e C=O degli inibitori peptidici e i residui della proteasi. In aggiunta, le catene laterali aminoacidiche in ogni posizione dell'inibitore da P4 a P3' si trovano in ulteriori sottositi, da S4 a S3', formati dai residui della proteasi. Le interazioni sottosito-substrato dipenderebbero dalla sequenza aminoacidica del substrato.

Negli ultimi anni sono stati sintetizzati numerosi inibitori della proteasi dell'HIV. Tutti i composti clinicamente in uso sono inibitori competitivi, che mimano la presenza del substrato nel sito

attivo del dimero proteasico. Approcci alternativi includono molecole che modificano in modo covalente il sito attivo (aspartato) o che hanno come bersaglio la regione dell'interfaccia del dimero.

L'osservazione del riconoscimento della proteasi dell'HIV come substrato del legame peptidico tra tirosina o fenilalanina e prolina ha portato a progettare la sintesi di vari analoghi oligopeptidici, che mimano il substrato naturale dell'HIV proteasi e, sostituendosi ad esso, bloccano l'azione catalitica della proteasi. Tale blocco comporta una limitazione della crescita del virus nelle colture di cellule infettate dall'HIV. Le particelle virali immature e non infettive, formatesi a seguito dell'inibizione della proteasi, agiscono da antigeni, capaci di stimolare il sistema immunitario, e di conseguenza l'infezione subisce un arresto. A differenza del substrato naturale, che contiene il gruppo CONH facilmente scindibile tra tirosina (o fenilalanina) e prolina, gli analoghi oligopeptidici, progettati come inibitori dell'HIV proteasi, contengono, al posto del legame ammidico, un legame non idrolizzabile tra Tyr (o Phe) e Pro, come ad esempio un ponte idrossi- o diidrossietilenamminico (**Fig. 6**).¹²⁸



Fig.6: Dipeptidi isosteri contenenti idrossi- e diidrossietilene.

Ritenendo che l'HIV proteasi fosse una proteasi aspartica (capace quindi di idrolizzare il legame peptidico tra un aminoacido aromatico e la prolina), sono stati preparati vari composti, la cui struttura mima la sequenza del tripeptide asparagina-fenilalanina-prolina. (**Fig. 7**)

¹²⁸ (a) Benedetti, F.; Magnan, M.; Miertus, S.; Norbedo, S.; Parat, D.; Tossi, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 3027.
 (b) Benedetti, F.; Berti, F.; Miertus, S.; Romeo, D.; Schillani, F.; Tossi, A. *Arkivoc* **2003**, *14*, 140.

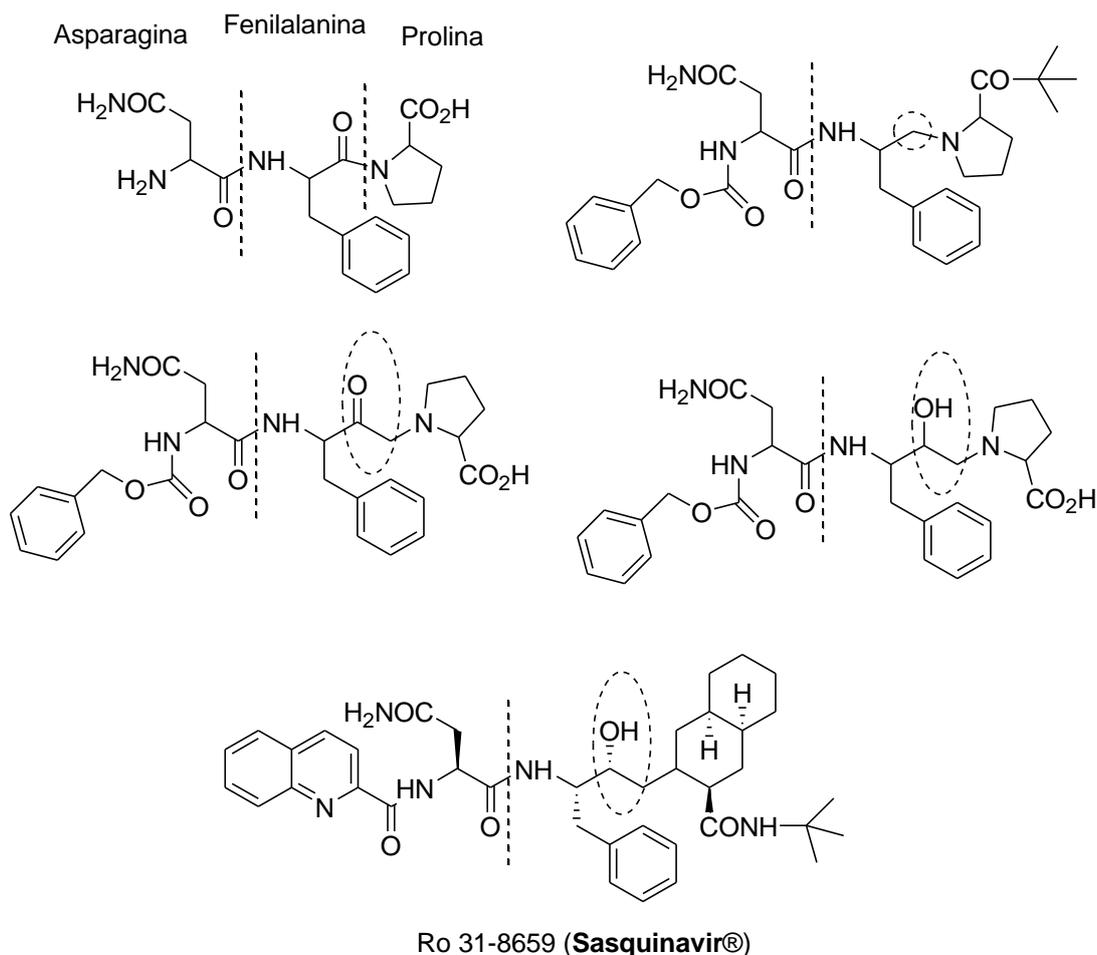


Fig. 7: Composti la cui struttura chimica mima la sequenza del tripeptide Asparagina-Fenilalanina-Prolina.

Scopo di questo progetto è la modificazione di peptidi già noti come potenti inibitori delle asparticoproteasi del virus HIV-1 e della *Candida Albicans*,¹²⁹ e delle serine proteasi del virus dell'epatite C, basati sull'uso di β -omoproline **126**, contenenti uno o più residui ossidrilici ed un *constraint* costituito da un anello ciclopropanico, e **127** contenente un gruppo idrossimetile come quello presente nella serina (**Fig. 8**).

¹²⁹ Tossi, A.; Benedetti, F.; Norbedo, S.; Skrbec, D.; Berti, F.; Romeo, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4719.

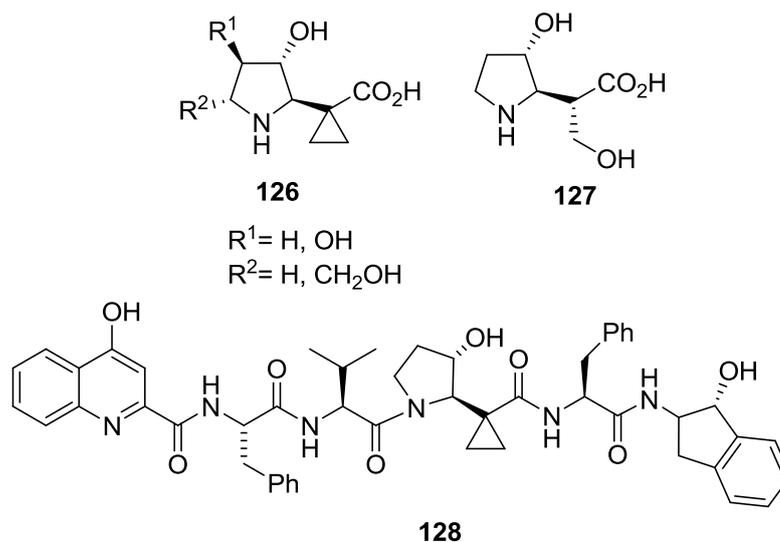


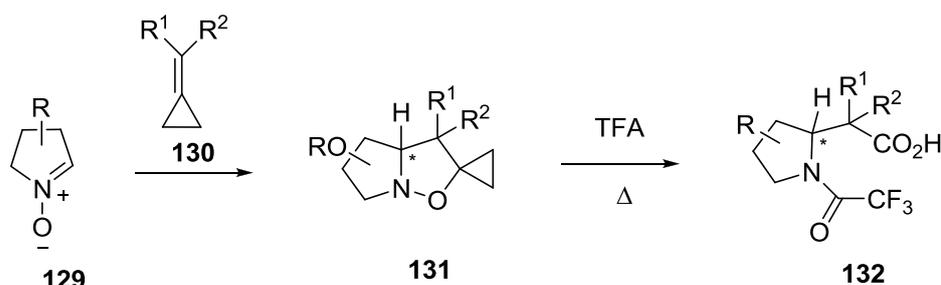
Fig. 8: Esempio di struttura di un nuovo possibile inibitore di proteasi aspartiche di HIV-1 e *Candida albicans* **128**. L'unità centrale è rappresentata dal β -amminoacido **126** ($\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$).

Tali substrati possono essere sintetizzati attraverso un processo chemo- e regioselettivo messo a punto nel nostro gruppo di ricerca che sfrutta la cicloaddizione 1,3-dipolare (1,3-DC) di nitroni **129**^{130,131} con alchilidene-ciclopropani **130** seguita da trasposizione termica in ambiente acido delle isossazolidine ottenute **131**¹³² (Schema 35).

¹³⁰ Per recenti *reviews* sull'impiego di nitroni nelle cicloaddizioni 1,3-dipolari, vedi: (a) Jones, R. C. F.; Martin, J. N. *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Product*, A. Padwa e W. H. Pearson, Eds., John Wiley & Sons, New York **2002**, 59, 1. (b) Koumbis, A. E.; Gallos, J. K. *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 585. (c) Osborn, H. M. I.; Gemmel, N.; Harwood, L. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **2002**, 2419. (d) Cardona, F.; Goti, A.; Brandi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2999. (e) Gothelf, K. V.; Jørgensen, K. A. *Chem. Commun.* **2000**, 1449. (f) Gothelf, K. V.; Jørgensen, K. A. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 863. (g) Rück-Braun, K.; Freysoldt, T. H. E.; Wierschem, F. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 507.

¹³¹ Per alcuni articoli che trattano l'uso di pirroline N-ossido nelle cicloaddizioni 1,3-dipolari per la sintesi di composti eterociclici, vedi: (a) Tufariello, J. J. *Acc. Chem. Res.* **1979**, 12, 396. (b) Tufariello, J. J.; Lee, G. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 373. (c) Otomasu, H.; Takatsu, N.; Honda, T.; Kametani, T. *Tetrahedron* **1982**, 38, 2627. (d) Iida, H.; Tanaka, M.; Kibayashi, C. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 271. (e) Iida, H.; Watanabe, Y.; Kibayashi, C. *Chem. Lett.* **1983**, 1195. (f) Tufariello, J. J.; Puglis, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 1265. (g) Brandi, A.; Cordero, F. M.; Querci, C. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1748. (h) Cordero, F. M.; Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 949.

¹³² (a) Cordero, F. M.; Salvati, M.; Pisaneschi, F.; Brandi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2205. (b) Cordero, F. M.; Salvati, M.; Vurchio, C.; de Meijere, A.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 4225.



Schema 35: Processo di formazione di β -omoproline **132**.

I β -amminoacidi rappresentano importanti *target* in chimica organica sia per il loro ruolo come intermedi sintetici²⁵ che come componenti chiave di numerosi composti biologicamente attivi,^{26f,g} di peptidomimetici²⁷ e di β -peptidi.^{28,29} α - e β -Amminoacidi aventi un anello ciclopropanico adiacente al gruppo carbossilico rappresentano *target* di notevole interesse.¹³³ In generale, infatti, l'introduzione di un anello relativamente piccolo, come quello ciclopropanico, influisce significativamente sulla flessibilità conformazionale dei rispettivi amminoacidi e peptidi nei quali è inserito.^{133,134}

Nonostante la loro potenziale attività come *building blocks* nella sintesi organica e in *medicinal chemistry*, i β -amminoacidi sostituiti in posizione 2 con un anello ciclopropanico non sono stati studiati approfonditamente. Questo potrebbe essere dovuto alle difficoltà riscontrate nella sintesi di derivati più complessi in modo stereoselettivo.^{135,136}

Le issozolidine, 1,2-*N,O*-eterocicli saturi a cinque termini, facilmente ottenibili da materiali di partenza semplici come alcheni e nitroni, rappresentano degli intermedi molto utili in sintesi organica.¹³⁷ La presenza di un legame N-O labile, che può essere facilmente scisso in

¹³³ Per recenti *reviews* su α - e β -amminoacidi aventi un gruppo ciclopropilico, vedi: (a) Brackmann, F.; de Meijere, A. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4493. (b) Brackmann, F.; de Meijere, A. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4538. (c) Gnad, F.; Reiser, O. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1603.

¹³⁴ Per esempi di peptidomimetici contenenti anelli ciclopropanici, vedi: (a) Reichelt, A.; Martin, S. F. *Acc. Chem. Rev.* **2006**, *39*, 433. (b) Hanessian, S.; Auzzas, L. *Accounts of Chemical Research* **2008**, *41*, 1241.

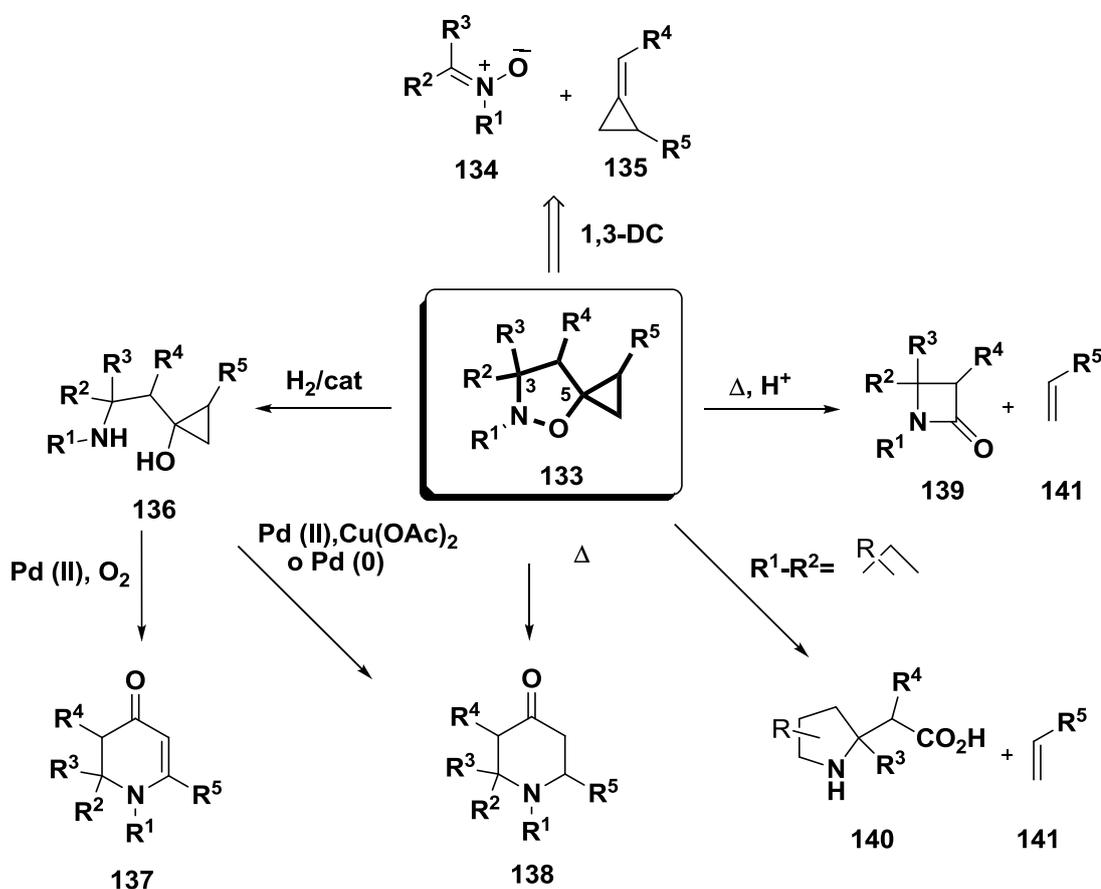
¹³⁵ Per alcune sintesi di derivati achirali o in forma racema, vedi: (a) Murakami, M.; Ishida, N.; Miura T. *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 476. (b) Bertus, P.; Szymoniak, J. *Synlett* **2003**, 265. (c) Schwarz, J. B.; Gibbons, S. E.; Graham, S. R.; Colbry, N. L.; Guzzo, P. R.; Le, V. D.; Vartanian, M. G.; Kinsora, J. J.; Lotarski, S. M.; Li, Z.; Dickerson, M. R.; Su, T. Z.; Weber, M. L.; El-Kattan, A.; Thorpe, A. J.; Donevan, S. D.; Taylor, C. P.; Wustrow, D. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3026.

¹³⁶ Per alcuni derivati otticamente attivi, vedi: (a) Hegedus, L. S.; Bates, R. W.; Soderberg, B. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 923. (b) Bartels, A.; Jones, P. G.; Liebscher J. *Synthesis* **1998**, 1645. (c) Nakamura, I.; Nemoto, T.; Yamamoto, Y.; de Meijere, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5176. (d) Saimoto, H.; Nishio, K.; Yamamoto, H.; Shinoda, M.; Hiyama, T.; Nozaki, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 3093.

¹³⁷ Jones, R. C. F. *Chem. Heterocycl. Compd.* [Weissberger-Taylor series] **2002**, *59*, 1

condizioni riducenti blande, permette di utilizzare comunemente questi eterocicli come unità 1,3-amminoalcoliche mascherate.¹³⁸

Una classe particolare di isossazolidine è costituita dalle 5-spirociclopropano isossazolidine **133**, prodotti della 1,3-DC di nitroni **134** con il metilenciclopropano o suoi derivati **135**. Come risultato della combinazione della tensione di anello del ciclopropano e del debole legame N-O adiacente, questi eterocicli **133** mostrano una reattività particolare e possono essere facilmente convertiti in differenti azaeterocicli quali diidropiridoni **137**, tetraidro- **138**, azetidioni **139** e β -omoprolina **140**, con un alto grado di selettività a seconda dei sostituenti presenti e delle condizioni di reazione.¹³⁹ (Schema 36)

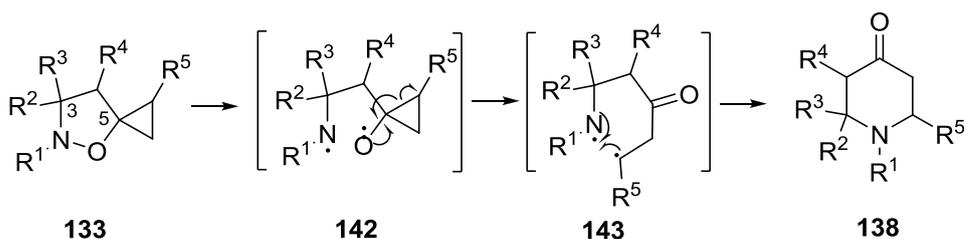


Schema 36: Reattività delle 5-spirociclopropano isossazolidine **133**.

¹³⁸ (a) Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A.; Guarna, A.; De Sarlo, F. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3351. (b) LeBel, N. A.; Balasubramanian, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3363.

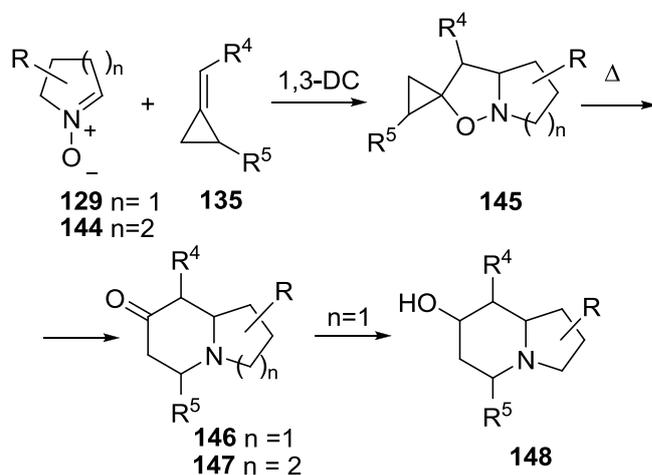
¹³⁹ Per alcuni articoli su reazioni di cicloadizione 1,3-dipolare di nitroni e metilenciclopropani, vedi: (a) Goti, A.; Cordero, F. M.; Brandi, A. *Top. Curr. Chem.* **1996**, *178*, 1. (b) Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M.; Goti, A. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1213.

Mentre le isossazolidine in genere sono stabili al calore, le 5-spirociclopropano isossazolidine **133** subiscono una trasposizione termica (SPIX-TR) che le trasforma principalmente in 4-tetraidropiridoni **138**. Il processo si pensa che inizi con l'omolisi del legame N-O, con formazione di un intermedio diradicalico **142**, seguita istantaneamente dall'apertura dell'anello ciclopropanico e formazione del forte legame C=O. Il secondo intermedio diradicalico **143** può evolvere poi nel derivato tetraidropiridonico **138** per ricombinazione intramolecolare dei due frammenti radicalici (Schema 37).^{140,141}



Schema 37: Meccanismo supposto per la formazione dei 4-tetraidropiridoni **138**.

Il processo 1,3-DC/TR permette un elevato controllo della configurazione relativa ed assoluta dei centri stereogenici della molecola introdotti nella cicloaddizione, dato che questi non vengono coinvolti nella trasposizione.



Schema 38: SPIX-TR su isossazolidine **145** ottenute da nitroni ciclici **129** e **144** e loro possibili derivatizzazioni.

¹⁴⁰ Brandi, A.; Cordero, F. M.; Goti, A.; De Sarlo, F.; Guarna, A. *Synlett.* **1993**, 1.

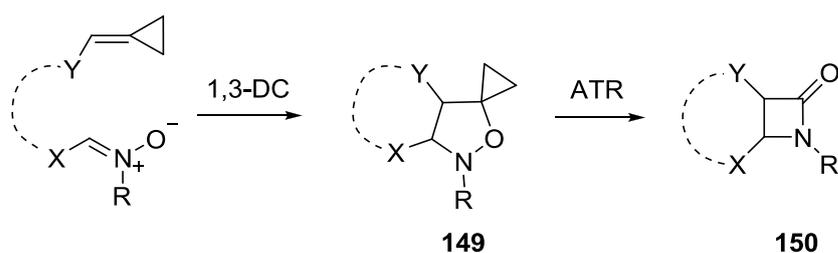
¹⁴¹ Per il meccanismo di reazione, vedi: Cordero, F. M.; De Sarlo, F.; Brandi, A. *Monatsh. Chem.* **2004**, *135*, 649.

Quando la trasposizione termica interessa 5-spirociclopropano isossazolidine **145** ottenute da nitroni ciclici, in particolare a 5 o 6 termini **129** e **144**, si ottengono chetoni biciclici con l'azoto a testa di ponte come gli indolizidinoni **146** ed i chinolizidinoni **147** (Schema 38).¹⁴² Questi a loro volta possono essere usati come intermedi per ottenere prodotti altamente funzionalizzati con stereochimica definita **148**.

Questo approccio è stato utilizzato per sintetizzare polioidrossiindolizidine naturali e loro analoghi che hanno mostrato interessanti proprietà inibitrici nei confronti delle glicosidasi.^{131h}

I tetraidropiridoni **138**, o i diidropiridoni **137**, possono essere ottenuti dalle 5-spirociclopropano isossazolidine **133** anche attraverso un processo catalizzato da Pd in due passaggi, ossia riduzione chemoselettiva del legame N-O dell'anello isossazolidinico e trasposizione catalizzata da Pd(II) del β -amminociclopropanolo **136** per ottenere i prodotti finali (tetraidropiridoni **138** o diidropiridoni **137**).¹⁴³

Recentemente nel nostro gruppo di ricerca è stata individuata una trasformazione nuova e completamente differente di **133**, che amplia l'utilizzo di questi composti come intermedi sintetici. E' stato ideato un nuovo approccio generale per la sintesi di β -lattami **141** e β -amminoacidi **140** basato sulla cicloaddizione 1,3-dipolare di nitroni **134** con metilenciclopropano (MCP) e suoi derivati **135**, seguita da trasposizione termica dei cicloaddotti protonati (*spiroCycloPropaneIsoxazolidine Acid Thermal Rearrangement*, SPIX-ATR).¹⁴⁴ In particolare monobattami e azetidioni 3,4-*cis*-fusi **150** sono stati ottenuti con buone rese partendo da cicloaddotti di nitroni aciclici **149** in un processo rispettivamente, inter- ed intramolecolare. (Schema 39)^{132a, 141,144,145}



Schema 39: Approccio intra- and intermolecolare a monobattami e azetidioni 3,4-fusi **150** mediante sequenza 1,3-DC / ATR.

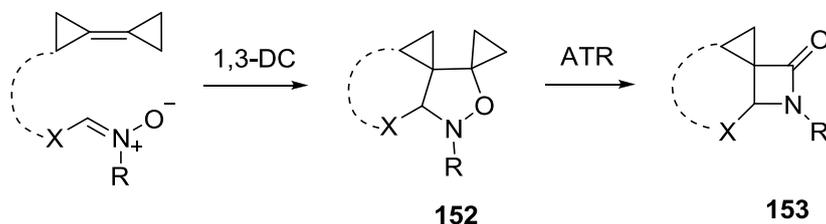
¹⁴² Brandi, A.; Cardona, F.; Cicchi, S.; Cordero, F. M.; Goti, A. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7808.

¹⁴³ Revuelta, J.; Cicchi, S.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5636.

¹⁴⁴ Cordero, F. M.; Pisaneschi, F.; Goti, A.; Ollivier, J.; Salaün, J.; Brandi, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8075.

¹⁴⁵ (a) Cordero, F. M.; Pisaneschi, F.; Salvati, M.; Paschetta, V.; Ollivier, J.; Salaün, J.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3271; (b) Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3988.

Lo stesso approccio può essere facilmente esteso alla sintesi di 3-spirociclopropan- β -lattami altamente tensionati **153** con l'impiego di biciclopropilidene (BCP) **151** o suoi derivati come dipolarofili nella reazione di cicloadizione (**Schema 40**).¹⁴⁶

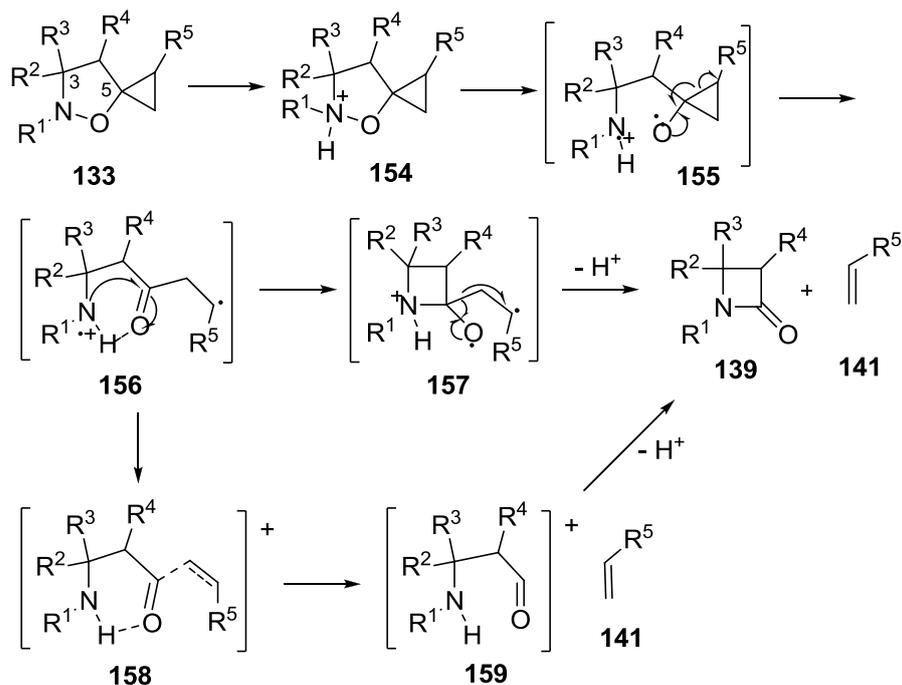


Scheme 40: Approccio intra- and intermolecolare a 3-spirociclopropan- β -lattami **153** mediante sequenza 1,3-DC/ATR.

Il meccanismo proposto per la trasposizione termica in condizioni acide delle isossazolidine 5-spirociclopropaniche **133** è descritto nello **Schema 41** e inizia con l'omolisi del debole legame N-O dell'isossazolidina protonata **154** seguita dalla formazione del catione diradicalico **155**, che subisce l'apertura dell'anello ciclopropanico con formazione del legame C=O, analogamente alla trasposizione in condizioni neutre. La presenza di un forte legame ad idrogeno intramolecolare, però, evita la ricombinazione dei due frammenti radicalici che porterebbe alla formazione dei tetraidropiridoni **138**; si ha invece la formazione del legame C-N del ciclo azetidionico e frammentazione radicalica con uscita dell'alchene $\text{CH}_2=\text{CHR}^5$ **141** e di un protone con l'ottenimento degli azetidiononi **139**.

Studi computazionali, necessari per poter confermare le nostre ipotesi, in corso presso il gruppo di ricerca del prof. Remo Gandolfi dell'Università di Pavia, suggerirebbero due possibili meccanismi per il processo, uno di tipo concertato ed uno di tipo diradicalico. In entrambi, comunque, appare evidente che la frammentazione ad etilene avviene prima della chiusura del ciclo azetidionico, con la formazione quindi di un intermedio tipo **159**. La protonazione dell'atomo di azoto, cioè, provoca un indebolimento di entrambi i legami dell'anello spirociclopropanico. Un approfondimento dello studio computazionale è, comunque, necessario per determinare se la reazione avviene con un meccanismo concertato o bistadico e per definire tutti gli intermedi del processo.

¹⁴⁶ (a) Zanobini, A.; Gensini, M.; Magull, J.; Vidović, D.; Kozhushkov, S. I.; Brandi, A.; de Meijere, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 4158. (b) Zanobini, A.; Brandi, A.; de Meijere, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1251. (c) Marradi, M.; Brandi, A.; Magull, J.; Schill, H.; de Meijere, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 5485.



Schema 41: Meccanismo supposto per lo SPIX-ATR.

Per il processo la trasposizione termica in condizioni acide sono richieste temperature significativamente più basse di quelle impiegate in condizioni di neutralità (70-110 °C), la presenza di un equivalente molare, o di un leggero eccesso, di un acido protico come acido trifluoroacetico (TFA), acido paratoluensolfonico (p-TsOH) o acido cloridrico (HCl) in solventi come CH₃CN o toluene.

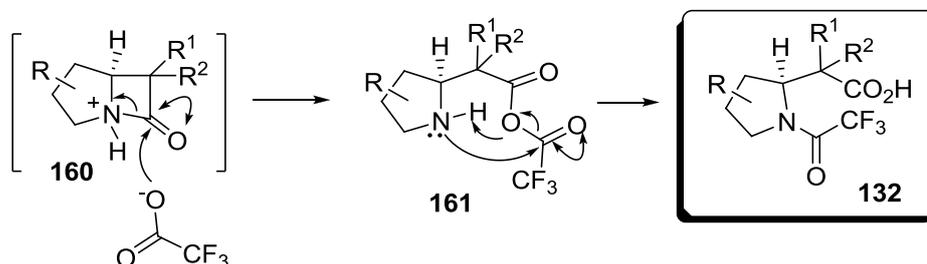
Anche in questo caso vale la pena sottolineare che gli stereocentri sull'anello isossazolidinico, non essendo direttamente coinvolti nel processo ATR, conservano la loro configurazione nel prodotto β -lattamico. L'impiego di nitroni ottenuti da molecole del *pool* chirale permette la sintesi di azetidioni otticamente attivi con un alto stereocontrollo.

Il processo SPIX-ATR è particolarmente importante, perché permette di preparare nuovi derivati β -lattamici difficilmente ottenibili attraverso metodologie sintetiche classiche.¹⁴⁷

Nel caso in cui la sequenza di cicloadizione 1,3-dipolare e trasposizione termica in condizioni acide (1,3-DC-ATR) sia condotta su nitroni ciclici come le pirroline *N*-ossido **129**, la struttura carbapenamica **160** che si ottiene, alquanto tensionata, non sopravvive alle condizioni di reazione,^{132a} ma subisce trifluoroacetolisi del legame ammidico con formazione dell'anidride mista

¹⁴⁷ Per l'importanza sia da un punto di vista sintetico che biologico di strutture β -lattamiche vedi capitolo xx

161 da cui, per attacco nucleofilo intramolecolare dell'N pirrolidinico, si formano β -omoproline protette come trifluoroacetammidi **132** (Schema 42)¹⁴⁸



Schema 42: Meccanismo supposto per la formazione dei β -amminoacidi **132**.

Al pari dei β -lattami anche i corrispondenti β -amminoacidi sono di notevole interesse sia come intermedi sintetici che come mimetici degli amminoacidi naturali per la sintesi di analoghi di molecole bioattive. I β -amminoacidi enantiomericamente puri sono emersi nell'ultimo decennio come interessanti *target* sintetici non solo per il fatto che i corrispondenti oligomeri, i β -peptidi, formano facilmente strutture secondarie stabili come *turns*, *sheet* e eliche.^{29e} β -Amminoacidi hanno, infatti, anche interessanti proprietà farmacologiche e le loro applicazioni in *medicinal chemistry* stanno notevolmente crescendo in quanto è stato osservato come il loro inserimento all'interno di peptidi ne incrementa la stabilità metabolica.¹⁴⁹

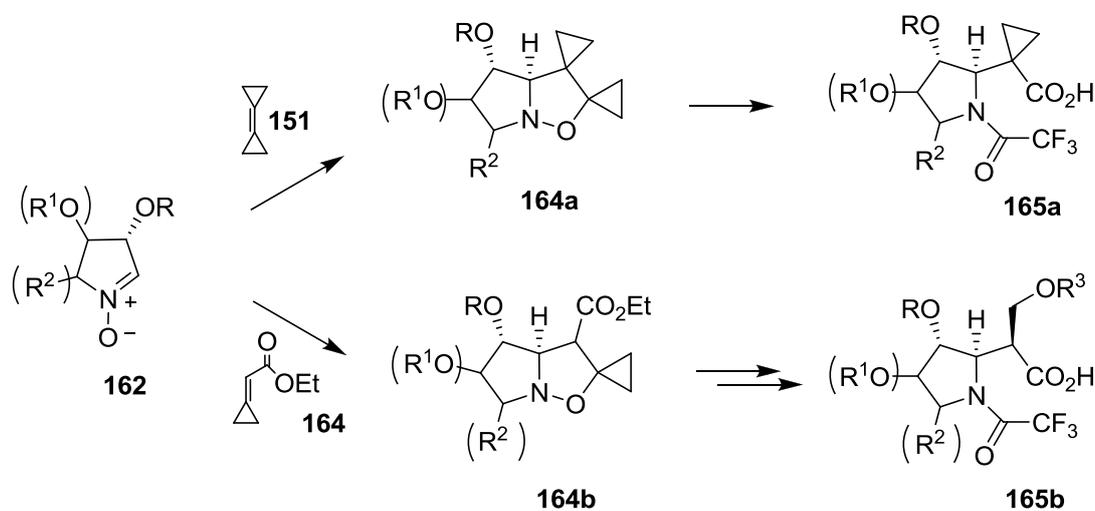
Un aspetto importante da notare in quest'ambito è che i β -amminoacidi **132**, che sono delle β -omoproline, possono essere poli- o monoidrossilati a seconda dei reagenti di partenza utilizzati ed anche questo è un grosso vantaggio visto che i gruppi OH possono incrementare le interazioni con il sito attivo dell'enzima a cui è rivolta l'attività del peptide costruito.

In questo lavoro l'attenzione è stata rivolta allo studio della reattività SPIX-ATR di 2'-spirociclopropano pirrolo[1,2-*b*]isossazolidine **131** variamente sostituite e facilmente ottenibili per reazione di cicloaddizione 1,3-dipolare da derivati di molecole del *pool* chirale come le pirroline N-ossido **162**. I dipolarofili utilizzati in questo passaggio sintetico sono stati il BCP **151** e l'etilpropilideneacetato **163**. L'impiego del BCP **151** permette di introdurre in α al gruppo acido un anello ciclopropanico tensionato che può ridurre la libertà conformazionale della molecola ed, eventualmente, di un peptide all'interno del quale questa viene inserita.

¹⁴⁸ (a) Brennan, J.; Richardson, G.; Stoodley, R. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1983**, 649. (b) Sharma, R.; Stoodley, R. J.; Whiting, A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1987**, 2361. (c) Crackett, P. H.; Pant, C. M.; Stoodley, R. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1984**, 2785.

¹⁴⁹ Schreiber, J. V.; Frackenhohl, J.; Moser, F.; Fleischmann, T.; Kohler, H.-P. E.; Seebach, D. *Chem. Bio. Chem.* **2002**, *3*, 424.

Con il propilideneacetato **163** si può introdurre in α , tramite successiva riduzione della funzione esterea, un pendaglio idrossimetilenico tipico dell'amminoacido serina (**Schema 43**).



Schema 43: Schema sintetico per l'ottenimento di β -omoprolina **165a** e **165b**.

Reazioni di *coupling* sono state condotte su alcune delle β -omoprolinae ottenute al fine di verificare un loro possibile inserimento all'interno di catene peptidiche e, per ottenere peptidi analoghi di inibitori virali per patologie quali l'HIV e l'HCV.

6.2 SINTESI DEI NITRONI DI PARTENZA

I nitroni utilizzati in questo lavoro come precursori di β -omoproline sono quelli ciclici a 5 termini derivanti dall'acido malico (**169**), aventi il gruppo ossidrilico protetto come *t*-butile **166** e benzile **167**, e il nitrone **168** avente 3 gruppi ossidrilici protetti come benzileteri (**Fig. 9**).

I nitroni ciclici a 5 termini rappresentano la classe piú numerosa di nitroni ciclici enantiopuri sintetizzati. Sono, infatti, intermedi sintetici estremamente importanti per la sintesi di pirrolidine, pirrolizidine e indolizidine chirali, fondamentali strutture presenti in molti alcaloidi o loro analoghi bioattivi non naturali.¹⁵⁰

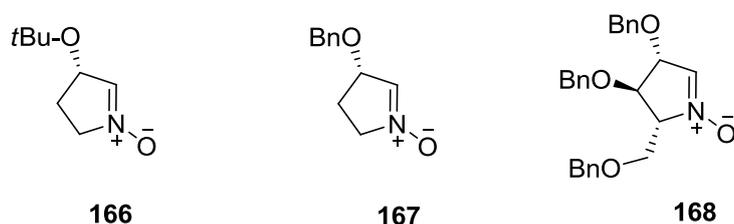
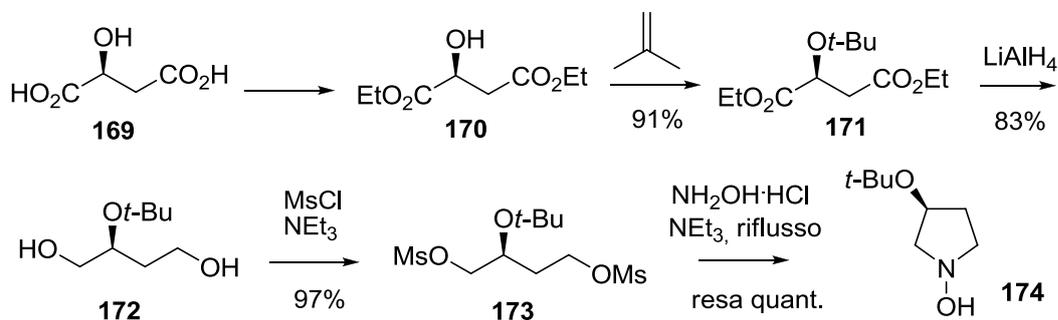


Fig 9: *Building blocks* delle β -omoproline sintetizzate.

La sintesi del nitrone **166** vede come intermedio sintetico il dimesilato **173**. Questo prodotto è stato ottenuto per esterificazione dell'acido L-malico (**169**), protezione del dietil L-malato **170** con 2-metilpropene catalizzata da Amberlite acida, riduzione con litio alluminio idruro a diolo **172** e trattamento con mesilcloruro. La reazione successiva, ovvero la ciclizzazione del dimesilato **173** a *N*-idrossipirrolidina **174** per doppia sostituzione nucleofila, rispettivamente inter- e intramolecolare a opera dell'idrossilamina, è stata condotta in trietilammina con un eccesso di idrossilamina alla temperatura di riflusso (**Schema 44**).¹⁵¹



¹⁵⁰ Revuelta, J.; Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A. *Synthesis* **2007**, 4, 485.

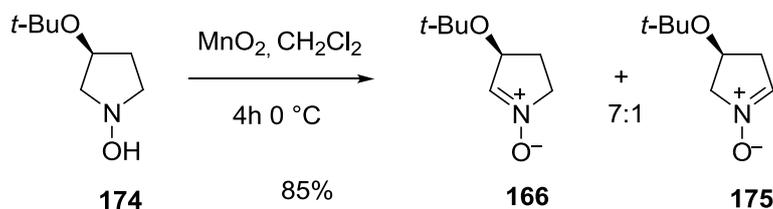
¹⁵¹ Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 4743

Schema 44: Sintesi di (3*S*)-3-*t*-butossi-*N*-idrossipirrolidina (**174**).

Il prodotto **174** è stato ottenuto con una resa sul grezzo quantitativa ed è stato utilizzato senza essere purificato come reagente nell'ultima reazione per l'ottenimento del nitrone.

L'ossidazione di **174** può essere svolta, con diversi reagenti ossidanti.¹⁵² Tra questi il MnO_2 e il HgO hanno dato i migliori risultati portando a due nitroni regioisomerici, **175** e **176**, in rapporti variabili a seconda dell'ossidante utilizzato. In questo caso è stato utilizzato MnO_2 per la minore tossicità rispetto ad HgO e la simile efficacia.^{151,153}

Dalla reazione di ossidazione di **174**, condotta in CH_2Cl_2 con un eccesso di MnO_2 (1.7 eq.), sono stati ottenuti come prodotti i due nitroni regioisomerici **166** e **175** che sono stati separati e purificati tramite cromatografia su gel di silice. La reazione è avvenuta con una resa totale dell'85% ed una regioselettività di 7:1 a favore del nitrone **166** desiderato (**Schema 45**).



Schema 45: Ossidazione di (3*S*)-3-*t*-butossi-*N*-idrossipirrolidina **174** con MnO_2

L'assegnazione della struttura dei due nitroni **166** e **175** è stata fatta sulla base del *chemical shift* del protone CHO/Bu che è più deschermato in **166** poiché è in posizione allylica. Così è stato assegnato il segnale a 4.80 ppm al CHO/Bu di **166** e il segnale a 4.49 ppm del corrispondente protone di **175**.

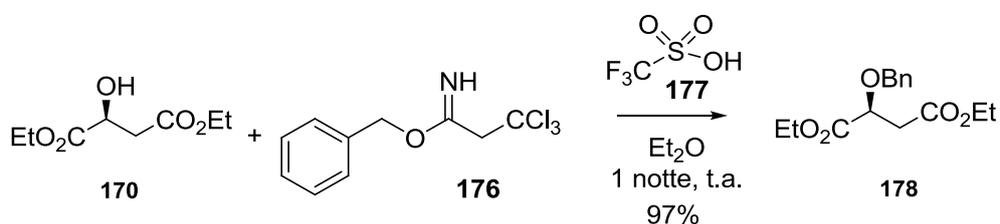
¹⁵² Per la formazione di nitroni dalle corrispondenti idrossilammine per ossidazione con MnO_2 , vedi: (a) Cicchi, S.; Marradi, M.; Goti, A.; Brandi, A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6503. (b) ref. 24b. (c) Ashoorzadeh, A.; Caprio, V. *Synlett.* **2005**, 346. Per ossidazione con MCPBA, vedi: (d) Nagasawa, K.; Georgieva, A.; Koshino, H.; Nakata, T.; Kita, T.; Hashimoto, Y. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 177. Per ossidazione con $\text{H}_2\text{O}_2/\text{SeO}_2$, vedi: (e) Pedro de March, M. C.; Figueredo, M.; Font, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 1031.

¹⁵³ Per esempi selezionati, vedi: (a) Goti, A.; Cacciarini, M.; Cardona, F.; Brandi, A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2853. (b) Goti, A.; Cicchi, S.; Fedi, V.; Nannelli, L.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3119. (c) Merino, P.; Tejero, T.; Revuelta, J.; Romero, P.; Cicchi, S.; Mannucci, V.; Brandi, A.; Goti, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 367. (d) Cicchi, S.; Hold, I.; Brandi, A. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5274. (e) Giovannini, R.; Marcantoni, E.; Petrini, M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5706. (f) Cicchi, S.; Corsi, M.; Brandi, A.; Goti, A. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1678. (g) Cicchi, S.; Marradi, M.; Vogel, P.; Goti, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1614. (h) Cardona, F.; Faggi, E.; Liguori, F.; Cacciarini, M.; Goti, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2315.

In un precedente lavoro è stato riportato che il nitrone avente il gruppo ossidrilico libero non è configurazionalmente stabile, per questo è stata necessaria una sua protezione.¹⁵⁴

I procedimenti sintetici per ottenere il nitrone **167** sono analoghi al caso precedente ad eccezione dello *step* di protezione del gruppo ossidrilico del dietil- L- malato (**170**) con la funzione benzilica.

La reazione di O-benzilazione è stata eseguita con il benzil-2,2,2-tricloroacetammidato (**176**) in ambiente acido (acido trifluorometansolfonico, **177**) per 12 h a temperatura ambiente (**Schema 46**).¹⁵⁵ Il prodotto è stato ottenuto con un'ottima resa (97%), decisamente migliore di quella riportata in letteratura (70%) utilizzando ossido di argento(I) e benzilbromuro.¹⁵⁶



Schema 46: Benzilazione del dietil-L-malato (**170**).

L'intermedio chiave benzilossi-idrossilammina **181** è stato poi ottenuto dal (*S*)-dietil-2-benzilossisuccinato (**178**) in 3 passaggi sintetici che consistono in riduzione con LiAlH_4 (THF, t.a. per 18 h poi a refluxo per 30 minuti), bis-mesilazione (MsCl , NEt_3 , CH_2Cl_2 , t.a., 4h) e ciclizzazione del bis-mesilato **180** con idrossilammina a refluxo in trietilammina. (**Schema 47**). In tutti questi stadi non è stato necessario purificare il prodotto di reazione ed il prodotto grezzo è stato utilizzato come prodotto di partenza per la reazione successiva. L'ossidazione dell'*O*-benzil-*N*-idrossi-3-pirrolidinolo **181** è stata effettuata aggiungendo a 0 °C alla una soluzione del prodotto di partenza in diclorometano MnO_2 attivato in piccole porzioni.

La miscela di reazione è stata lasciata sotto agitazione magnetica per un'ora a 0 °C e per 12 ore a temperatura ambiente. Dopo purificazione del grezzo di reazione su colonna cromatografica è stato ottenuto solo il nitrone **167**.

A differenza di quanto riportato in letteratura (rapporto tra gli isomeri ottenuti 88:12)¹⁵⁶ lavorando nelle stesse condizioni sperimentali non è stata osservata la presenza dell'isomero

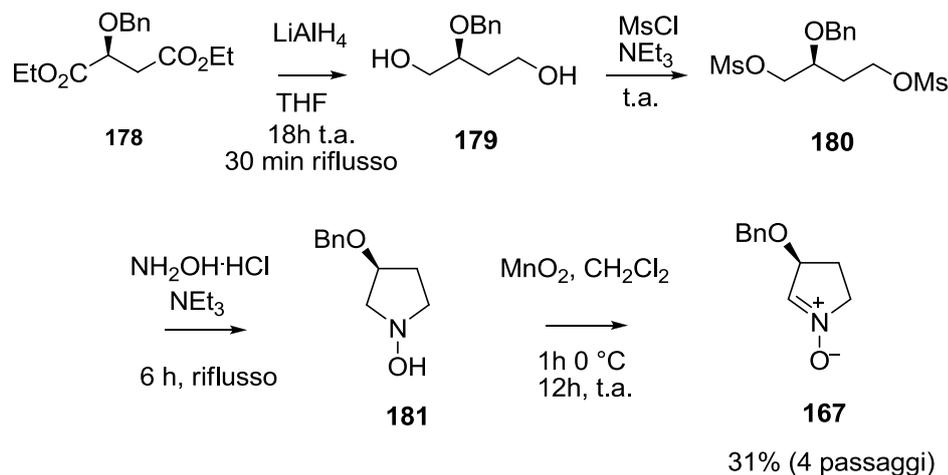
¹⁵⁴ Cordero, F. M.; Pisaneschi, F.; Gensini, M.; Goti, A.; Brandi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1941.

¹⁵⁵ Noriyuki, N.; Saito, M.; Ubukata, M. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3561.

¹⁵⁶ Wu, S. F.; Zheng, X.; Ruan, Y. P.; Huang, P. Q. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2967.

minoritario. Avendo eseguito la reazione di ossidazione sull'idrossilammina **181** senza aver eseguito una sua purificazione, è possibile che eventuali segnali indicanti la presenza dell'isomero minoritario nello spettro ^1H NMR del grezzo di reazione non siano osservabili perchè coperti da altri segnali o perchè troppo poco intensi.

La resa complessiva calcolata per gli ultimi 4 passaggi è del 31% (**Schema 47**).



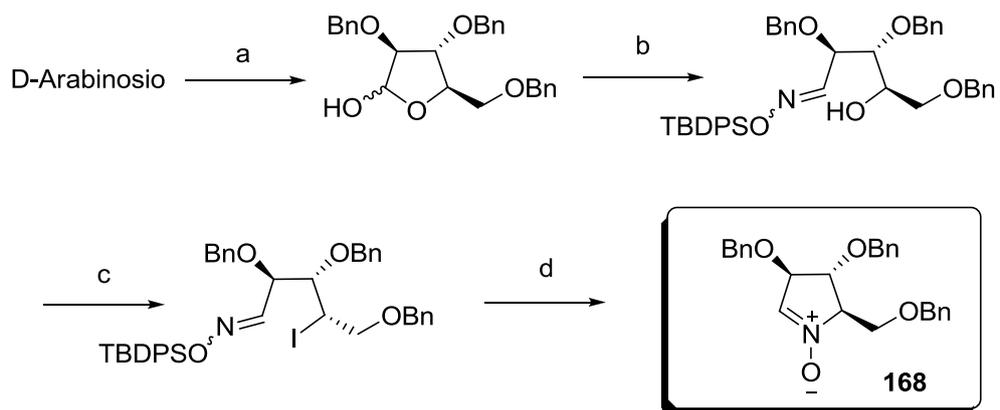
Schema 47: Sintesi di (3*S*)-3-benzilossi-*N*-idrossipirrolidina (**167**).

Degno di nota il fatto che la selettività osservata dal gruppo del prof. Huang¹⁵⁶ per l'ossidazione dell'idrossilammina **181** avente un gruppo *O*-benzilico e quella effettuata nel nostro gruppo di ricerca sull'idrossilammina **174** avente un gruppo *O*-*t*-butile è analoga (rapporto tra i due isomeri ottenuti 7:1)

In questo caso l'assegnazione della struttura del nitrone **167** è stata determinata sulla base del segnale del protone $\text{HC}=\text{N}$ nello spettro ^1H -NMR (quintetto con $J= 1.8$ Hz a 6.94 ppm); l'altro isomero, per lo stesso protone, darebbe, invece, un multipletto a 6.85 ppm.

Il nitrone chirale tribenzilato **168** è stato ottenuto, invece, dal D-Arabinosio con una procedura descritta da Goti e collaboratori^{153h} e utilizzata da altri gruppi¹⁵⁷ (**Schema 48**).

¹⁵⁷ (a) Carmona, A. T.; Wightman, R. H.; Robina, I.; Vogel, P. *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 3066. (b) Desvergnès, S.; Py, S.; Vallée, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1459.

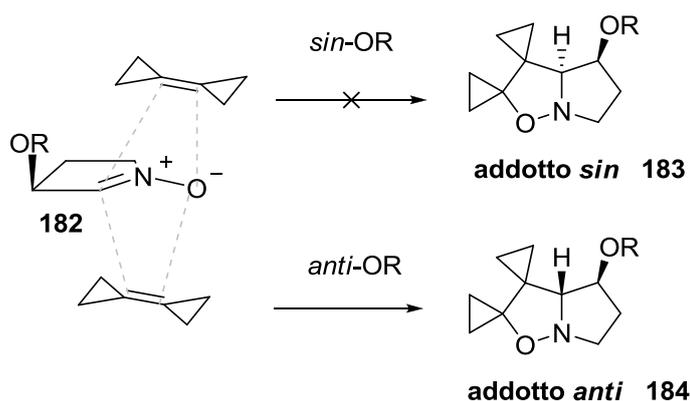


Schema 48: Reagenti e condizioni: a) i. MeOH/H₂SO₄, NA₂SO₄, t.a. 21h; ii. BnCl/KOH, NA₂SO₄, riflusso, 8h; iii. 6 N HCl, CH₃CO₂H, 60-70 °C (50% su 3 *steps*); b) i. NH₂OH·HCl, Py, t.a., 24h; ii. TBDPSCl, Py, t.a., 18h, 100%; c) I₂, ImH; Ph₃P, toluene, riflusso, 1h, 48%; d) TBAF su gel di silice, riflusso, 1.5h, 91%

6.3 CICLOADDIZIONE 1,3-DIPOLARE CON BCP **151** COME DIPOLAROFILO

I nitroni **166**, **167** e **168** sintetizzati sono stati impiegati nelle reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare con il dipolarofilo simmetrico BCP, **151**.

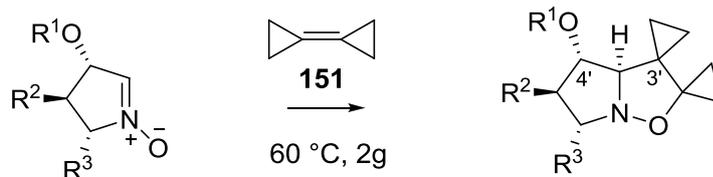
Teoricamente, Il BCP potrebbe addizionarsi su entrambe le facce del nitrone attraverso due stati di transizione competitivi, ossia lo stato di transizione *sin*-OR e *anti*-OR, per dare, rispettivamente, i due cicloaddotti diastereoisomerici **183** e **184**. (Schema 49).



Schema 49: Diastereoselettività della 1,3-DC tra **182** e BCP **151**.

La reazione è altamente selettiva, in quanto si ottiene esclusivamente il cicloaddotto *anti* **184**. L'attacco sulla faccia *Si* che porterebbe alla formazione del cicloaddotto *sin* **183**, infatti, risulta fortemente sfavorito dato il notevole ingombro del gruppo O-R sul C-3.

Le cicloaddizioni sono state eseguite utilizzando come solvente toluene e scaldando a 60 °C per 2 giorni. Sono necessari tempi di reazione così lunghi affinché le reazioni vadano a completamento, perché queste devono essere condotte a temperature moderate per evitare la trasposizione dei cicloaddotti ottenuti. Le cicloaddizioni effettuate in queste condizioni hanno portato alla formazione dei cicloaddotti **185**, **186** e **187** con buone rese (73-76%) (Schema 50).



$R^1 = t\text{Bu}, R^2 = R^3 = \text{H}$	166	cicloaddotto 185 , 73%
$R^1 = \text{Bn}, R^2 = R^3 = \text{H}$	167	cicloaddotto 186 , 76%
$R^1 = \text{Bn}, R^2 = \text{OBn}, R^3 = \text{CH}_2\text{OBn}$	168	cicloaddotto 187 , 73%

Schema 50 : Sintesi dei cicloaddotti dispirociclopropanici **185**, **186** e **187**.

L'assegnazione delle strutture dei cicloaddotti **185**, **186** e **187** è stata fatta sulla base degli spettri $^1\text{H-NMR}$ e $^{13}\text{C-NMR}$. Questi prodotti mostrano i segnali caratteristici del ciclopropano (otto protoni nella regione 0-1 ppm ed i corrispondenti quattro atomi di carbonio metilenici tra 3 e 11 ppm) e, inoltre, i segnali dovuti alla risonanza del protone legato al C-3a' dell'anello pirrolo-isossazolidinico (doppietto intorno a 3.5 ppm con $J = 5.7\text{-}5.8$ Hz) sono in accordo con la struttura riportata.

6.4 Cicloaddizione 1,3-dipolare con etilciclopropilidenacetato (162) come dipolarofilo

La 4-*t*-butossi-1-pirrolina *N*-ossido **166** è stata impiegata nella 1,3-DC con l'etil ciclopropilideneacetato (**162**) (**Schemi 51 e 52**).

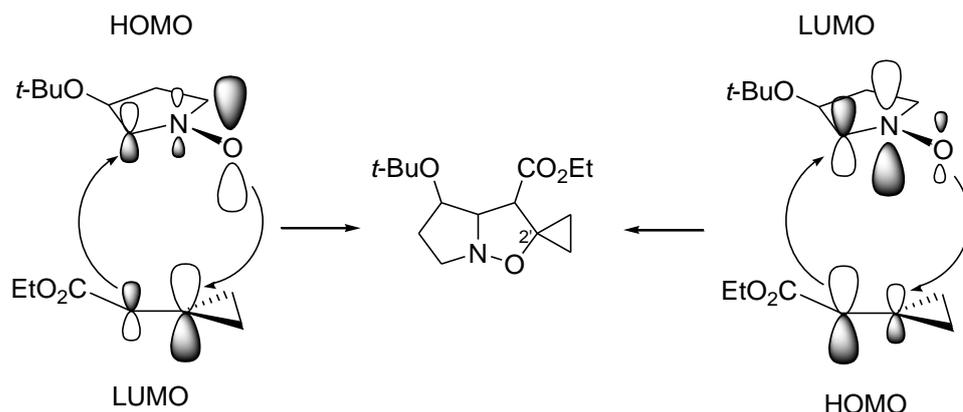
La reattività e la regioselettività con cui avvengono le 1,3-DC possono essere trattate con la teoria degli orbitali di frontiera (FMO). I nitroni sono dipoli di tipo II (classificazione di Sustmann)¹⁵⁸ che indica che entrambe le interazioni $\text{HOMO}_{\text{dipolo}}-\text{LUMO}_{\text{dipolarofilo}}$ e $\text{LUMO}_{\text{dipolo}}-\text{HOMO}_{\text{dipolarofilo}}$ sono possibili, e possono avere uguale importanza nel determinare reattività e regiochimica. La prevalenza di un'interazione sull'altra dipende sia dalla natura del nitrone che da quella del dipolarofilo.

A parità di nitrone se il dipolarofilo è un alchene sostituito da un gruppo elettron-donatore (EDG) l'interazione favorita risulta quella $\text{HOMO}_{\text{dipolarofilo}}-\text{LUMO}_{\text{dipolo}}$ dato che gli orbitali molecolari del dipolarofilo a causa del sostituente salgono in energia. L'opposto avviene se il dipolarofilo è un alchene sostituito da un gruppo elettron-attrattore (EWG). Il fatto che un'interazione sia favorita rispetto a un'altra, cioè la differenza di energia tra gli orbitali di frontiera interessati sia minore rispetto all'altra, ha effetto sulla reattività delle molecole in gioco.

Per quanto riguarda la regiochimica della cicloaddizione intervengono invece altri fattori. Lo stato di transizione della cicloaddizione ha energia più bassa quando gli atomi che interagiscono per formare i nuovi legami del cicloaddotto hanno coefficienti atomici negli FMO interessati di dimensioni comparabili. Intervengono, inoltre, fattori sterici che spiegano elevate regioselettività osservate in quei casi in cui non ci siano sostanziali differenze tra coefficienti atomici per poter prevedere quale sia il regioisomero favorito.

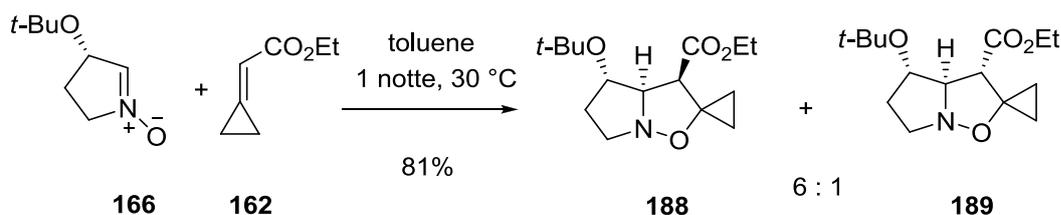
Per i reagenti specifici **166** e **162** l'interazione favorita è del tipo $\text{HOMO}_{\text{nitrone}}-\text{LUMO}_{\text{dipolarofilo}}$ e per quanto riguarda i coefficienti atomici i maggiori sono quelli sull'ossigeno dell'HOMO del nitrone e del carbonio in β al EWG per il LUMO dell'alchene (**Schema 51**). L'interazione $\text{LUMO}_{\text{nitrone}}-\text{HOMO}_{\text{dipolarofilo}}$, che si pensa essere la meno probabile, favorirebbe anch'essa comunque la formazione degli stessi legami considerando al solito i coefficienti atomici dei FMO in gioco.

¹⁵⁸ Sustmann, R. *Pure Appl. Chem.* **1974**, *40*, 569.



Schema 51: Interazione HOMO-LUMO della cicloaddizione tra **166** e **162** e conseguenze sulla regiochimica del cicloaddotto.

In effetti tra i prodotti dati dalla 1,3-DC tra **166** e **162** non compaiono i regioisomeri con l'anello ciclopropanico spirofuso in posizione 3', ma unicamente le 2'-spirociclopropano pirroloisossazolidine a testimonianza di una completa regioselettività (**Schema 52**).



Schema 52: 1,3-DC tra il nitrone **166** e l'etil ciclopropilideneacetato (**162**).

Anche la diastereoselettività della cicloaddizione è elevata, poiché dei quattro possibili prodotti 2'-spiro-fusi (**Schema 53**) si formano solo i due diastereoisomeri **188** e **189**, in rapporto circa 6:1 e con una resa complessiva dell'81%. I due addotti **188** e **189** derivano rispettivamente da un approccio tra i due reagenti di tipo *endo*(CO₂Et)-*anti*(Ot-Bu) e *exo*(CO₂Et)-*anti*(Ot-Bu).¹⁵⁹

L'assegnazione della stereochimica relativa dei centri stereogenici C-3', C-3a' nei cicloaddotti è stata fatta analizzando i valori delle costanti di accoppiamento nei corrispondenti spettri ¹H-NMR.¹⁵⁹

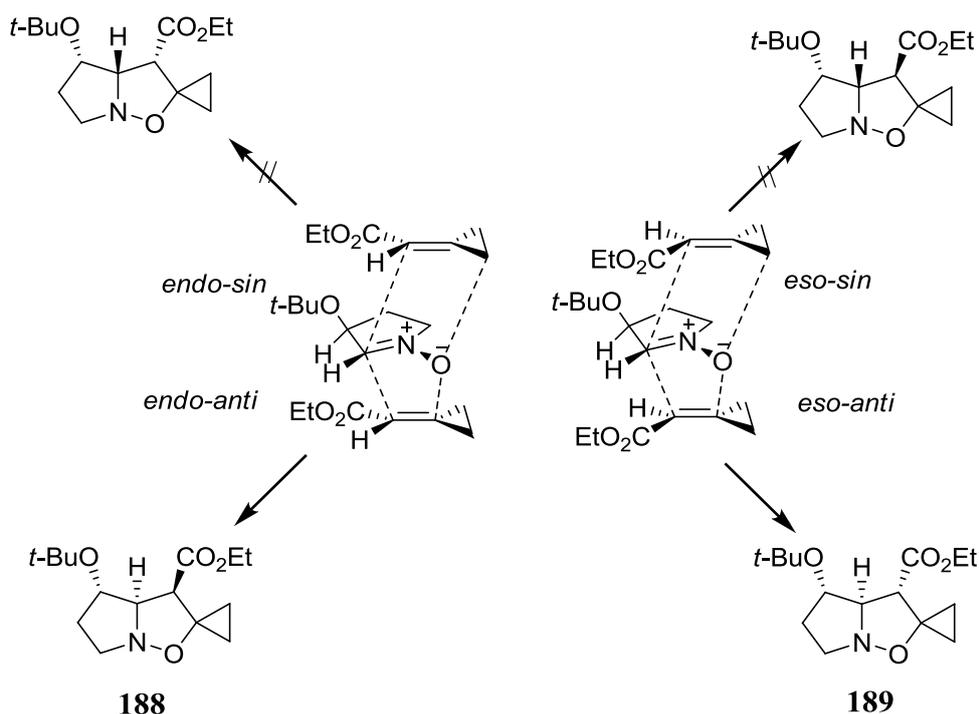
La costante di accoppiamento di 3'-H con il 3a'-H per il cicloaddotto **188** di 9.4 Hz indica una relazione *cis* fra i due atomi di idrogeno, mentre la relazione è *trans* tra il 3a'-H e il 4'-H data la costante di accoppiamento $J = 2.6$ Hz. Gli atomi di idrogeno 3'-H e 3a'-H sono *trans* nel prodotto

¹⁵⁹ Pisaneschi, F.; Piacenti, M.; Cordero, F. M.; Brandi, A. *Tetrahedron Asymmetry* 17, 2006, 292.

189 come mostrato dalla costante J di 4.6 Hz, come pure $3a^2$ -H e 4^2 -H data la costante di accoppiamento $J=3.0$ Hz.

La precedente assegnazione può essere fatta in analogia a sistemi simili a quelli considerati dove in base ad analisi NOESY sono stati determinati valori di $J_{trans} < 7$ Hz e $J_{cis} > 7$ Hz.¹⁶⁰

Essendo nota la configurazione assoluta del centro stereogenico C-4' si possono quindi ricavare anche quelle dei nuovi centri stereogenici C-3a' e C-3' nei due cicloaddotti ottenuti.



Schema 53: Diastereoselettività della 1,3-DC tra **166** e **162**.

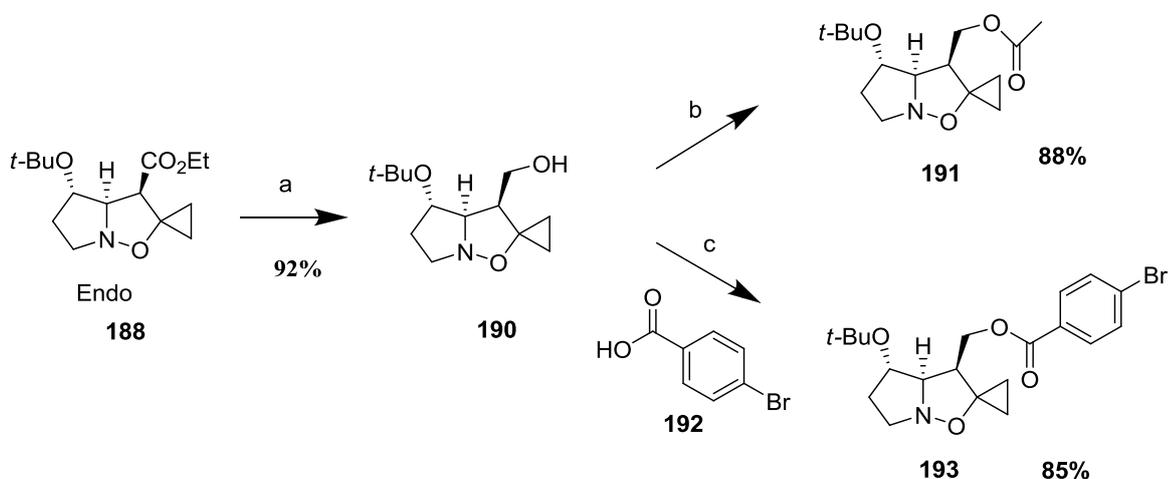
Il primo aspetto da notare è la completa diastereoselettività facciale *anti* dato che il dipolarofilo si avvicina alla faccia opposta a quella da cui sporge il sostituito in posizione 3 sull'anello pirrolidinico e tanto maggiore sarà il suo ingombro sterico più alta risulterà tale diastereoselettività. Per motivi d'ingombro sterico il prodotto *sin* che deriverebbe dall'avvicinamento del dipolarofilo al dipolo sulla faccia da cui sporge l'O*t*-Bu non si forma.

Un'altra forma di diastereoselettività osservata, anche se non completa riguarda la formazione dei prodotti *exo* e *endo*. L'isomero *endo* è quello che deriva quando nello stato di transizione il gruppo

¹⁶⁰ Goti, A.; Cicchi, S.; Cacciarini, M.; Cardona, F.; Fedi, V.; Brandi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3633.

estereo è diretto verso l'atomo di azoto del nitrone. Quando il gruppo CO_2Et è orientato nella direzione opposta si ottiene il prodotto *exo*. Genericamente la formazione del prodotto *exo* dovrebbe essere favorita rispetto all'*endo* per motivi di ingombro sterico, mentre lo stato di transizione *endo* può essere favorito per effetti elettronici. In questo caso particolare probabilmente il gruppo estereo in posizione *endo* può instaurare delle interazioni orbitaliche secondarie favorevoli tramite i suoi orbitali π con il nitrone per cui si forma principalmente il cicloaddotto *endo* **188**.

Il cicloaddotto maggioritario **188** è stato poi convertito nel corrispondente idrossimetil derivato **190** per riduzione del gruppo estereo (Schema 54).



Schema 54: Elaborazione del gruppo estereo del cicloaddotto *Endo* **188**.

Reagenti e condizioni: a) DIBAL-H, CH_2Cl_2 , 1h, 0°C; b) Ac_2O , DMAP cat., Py, 12 h, t.a.; c) DIC; DMAP cat., CH_2Cl_2 , 1 notte, t.a.

La reazione di riduzione è stata fatta utilizzando come agente riducente il DIBAL-H. Questo reagente è già stato usato in precedenza per ridurre alcossicarbonil 5-spirociclopropano isossazolidine monocicliche con completa chemoselettività in quanto non è stato ottenuto il prodotto derivante dalla riduzione del legame N-O dell'isossazolidina. **Errore. Il segnalibro non è definito.**⁷

Sono stati necessari 3.5 equivalenti molar di DIBAL-H per raggiungere la conversione completa in 1 ora. Probabilmente l'impiego di un eccesso di agente riducente è risultato necessario dato che il doppietto dell'azoto è capace di legare un equivalente di DIBAL-H tramite un legame di coordinazione tra l'azoto donatore e l'atomo di alluminio del riducente come accettore.

Successivamente è stata eseguita la funzionalizzazione del gruppo ossidrilico nel cicloaddotto **190** tramite la formazione degli esteri acetico **191** e dell'acido *p*-bromobenzoico **193**. La reazione di acetilazione è stata condotta nelle condizioni classiche con anidride acetica come reagente, in presenza di DMAP come catalizzatore e di un solvente basico come la piridina che salifichi l'acido acetico formato. Il prodotto desiderato **191** è stato ottenuto con una resa dell'88 % (**Schema 54**).¹⁶¹

Dall'analisi degli spettri NMR è stato possibile verificare che la configurazione relativa dei tre stereocentri C-4', C-3a' e C-3' presente in **188** è stata mantenuta in **191**. Infatti $J_{3',3a'}=8.0$ Hz (relazione di tipo *cis*) e $J_{3a',4'}=4.0$ Hz (relazione di tipo *trans*).

La reazione tra il cicloaddotto **190** e l'acido *p*-bromobenzoico **192**, eseguita in ambiente anidro a temperatura ambiente utilizzando la diisopropilcarbodiimide (DIC) in leggero eccesso e una quantità catalitica di DMAP ha portato alla formazione del derivato *p*-bromobenzoato **193** con una buona resa (85%). L'assegnazione della stereochimica relativa dei 3 stereocentri del cicloaddotto **193** è stata fatta per analogia con le strutture precedenti.

¹⁶¹ Langlois, F.; Rakotondradany, F. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2437.

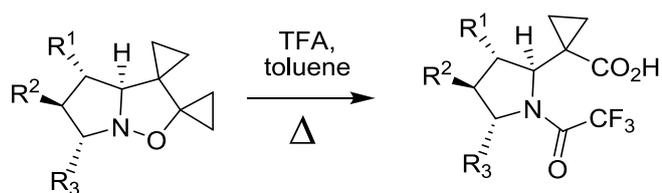
6.5 Studio della trasposizione delle spirociclopropano isossazolidine in ambiente acido (SPIX-ATR)

Le reazioni di ATR sulle isossazolidine appena descritte sono state condotte in toluene o acetonitrile, con TFA in eccesso (1.5 eq.). Il metodo di riscaldamento utilizzato è stato quello mediante irraggiamento di MW, di cui sono noti i vantaggi in chimica organica.¹⁶² Questo tipo di riscaldamento è di tipo locale ossia eccita direttamente le molecole dei reagenti e/o del solvente a seconda della loro polarità. Le molecole dotate di momento dipolare, infatti, sono capaci di allinearsi continuamente con il campo magnetico della radiazione microonde seguendo le sue oscillazioni. Ciò determina un aumento dell'energia cinetica di tali molecole che si disperde sotto forma di calore. Questo permette un riscaldamento molto più efficace in tempi minori e molto spesso porta ad una resa di reazione maggiore. Nelle reazioni svolte si è lavorato a una potenza costante di 150 W con il metodo *while cooling* (raffreddamento costante della miscela di reazione con un getto d'aria compressa appena raggiunta la T massima impostata).

I prodotti di reazione attesi sono le β -omoproline che si formano secondo il meccanismo descritto negli **Schemi 41** e **42**. Come precedentemente osservato, le strutture carbapenamiche che si formano in questo processo non resistono alle condizioni di reazione e si ha apertura dell'anello ad opera del TFA che le trasforma nei corrispondenti β -amminoacidi *N*-trifluoroacetilati.

Le β -omoproline **194**, **195** e **197** aventi in α un anello ciclopropanico vengono ottenute facilmente mediante trasposizione in ambiente acido dei corrispondenti cicloaddotti **185**, **186** e **187** (**Tab. 4**). La struttura di questi composti è stata confermata sulla base dei dati spettroscopici. In particolare negli spettri ¹³C-NMR di queste strutture si osservano i segnali a $\delta = 175$ e 156 ppm attribuibili rispettivamente al C=O dell'acido carbossilico e dell'ammide. Inoltre la presenza del gruppo trifluoroacetammidico è facilmente deducibile negli spettri ¹³C-NMR disaccoppiati, nei quali si osservano due caratteristici quartetti a 156 - 157 ($J_{C-F} = 36$ - 37 Hz) e 116 - 117 ppm ($J_{C-F} = 287$ - 288 Hz). Un accoppiamento C-F *long range* è osservabile tra il carbonio C-5 dell'anello pirrolidinico e gli atomi di fluoro (46.5 - 63.8 ppm, $J_{C-F} = 2.6$ - 4.0 Hz).

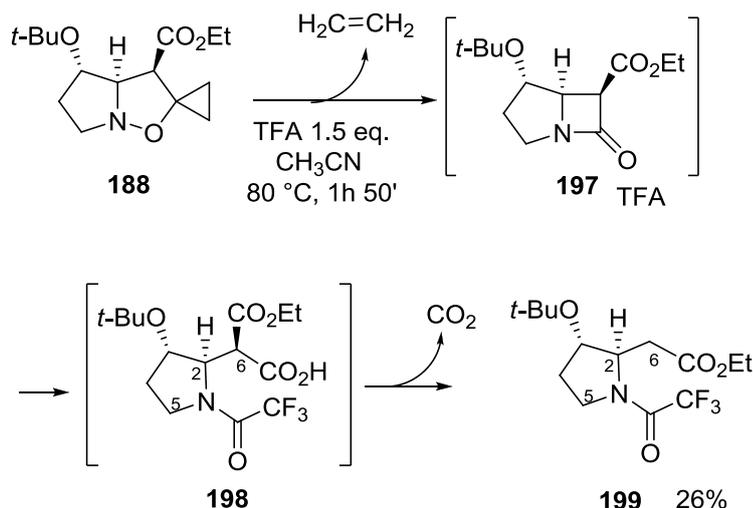
¹⁶² (a) Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250. (b) Loupy, A. *Microwaves in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **2006**. (c) Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225. (d) Perreux, L.; Loupy, A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9199. (e) Pineiro, M.; Pinho e Melo, T. M. V. D. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5287.



Cicloaddotto	Condizioni di reazione	Prodotto	Resa (%)
<p>187</p>	55-65°C (MW), 1h	<p>196</p>	73
<p>188</p>	55-65°C (MW), 1h	<p>197</p>	78
<p>189</p>	110°C, 10 min	<p>198</p>	94

Tab. 4: SPIX-ATR sulle 2', 3'-dispirociclopropanisossazolidine **185**, **186** e **187**.

La reazione condotta sul cicloaddotto **188** avente sul C-3' un gruppo estereo ha portato ad un prodotto non atteso. Infatti, per riscaldamento in bagno ad olio a 80 °C in presenza di un eccesso di TFA per 1 ora e 30 minuti la reazione ha portato alla formazione del prodotto **199** dovuto a un processo domino di trasposizione a β -lattame, trifluoroacetolisi del carbapenem **197** e decarbossilazione della β -omoprolina **198** (Schema 55). La resa piuttosto scarsa del 26% è probabilmente dovuta a una scarsa stabilità del prodotto finale o degli intermedi di reazione nelle condizioni utilizzate.



Schema 55: SPIX-ATR dell'isosazolidina **188**.

La resa del prodotto **188** non è stata ottimizzata, perché questo composto, pur essendo una nuova β -omoprolina enantiopura, non è sostituita in α al gruppo carbossilico per cui è un prodotto meno interessante rispetto ai composti aventi in α un gruppo idrossimetilenico (libero o protetto).

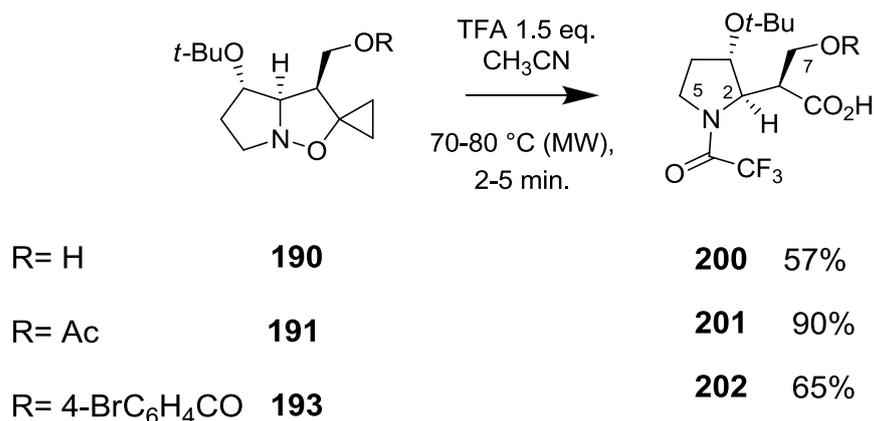
Dai cicloaddotti **190**, **191** e **193** applicando il processo di SPIX-ATR si ottengono β -omoproline che rappresentano anche derivati di β -omoserine e quindi possono riscontrare grande interesse come mimetici di questo amminoacido.

Le β -omoserine¹⁶³ sono amminoacidi coinvolti in importanti biotrasformazioni fisiologiche.¹⁶⁴

Le β -omoproline **200**, **201** e **202** possono essere facilmente ottenute riscaldando per pochi minuti ad una temperatura di 70-80 °C tramite irraggiamento con MW i corrispondenti cicloaddotti **190**, **191**, **193** in presenza di un eccesso di TFA (**Schema 56**).

¹⁶³ Per la sintesi di analoghi di omoserine, vedi: (a) Avenoza, A.; Cativiela, C.; Fernandez-Recio, M. A.; Peregrina, J. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 721. (b) Hammer, K.; Rømming, C.; Undheim, K. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 10837. (c) Hammer, K.; Undheim, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 2359. (d) Krikstolaityte, S.; Sackus, A.; Rømming, C.; Undheim, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 393. (e) Galeazzi, R.; Martelli, G.; Natali, D.; Orena, M.; Rinaldi, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 1779.

¹⁶⁴ (a) Barclay, F.; Chrystal, E.; Giani, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 815. (b) Barclay, F.; Chrystal, E.; Giani, D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 683.



Schema 56: SPIX-ATR delle isosazolidine **190**, **191** e **192**.

Lo SPIX-ATR dell'isosazolidina **190**, condotto per riscaldamento con MW per 5 minuti, ad una temperatura stabilizzata tra i 67-73 °C, ha portato alla formazione di due prodotti in rapporto di massa 1:2 con una resa complessiva del 57%. I due prodotti **201a** e **201b** sono stati facilmente separati per cromatografia su gel di silice. Inoltre è stato osservato che per riscaldamento a 60 °C in metanolo la miscela di **201a** e **201b** si trasforma in **201b**.

In condizioni analoghe di ATR, ossia riscaldamento con MW e temperatura stabilizzata tra 60-64 °C per 2 minuti, l'isosazolidina **191** ha dato una miscela dei prodotti **201a** e **201b** in rapporto di massa 2.4:1 con una resa complessiva del 90%. Anche in questo caso i due prodotti di reazione sono risultati facilmente separabili per cromatografia su gel di silice. I due derivati acetilati **201** mostrano anche una solubilità molto diversa. Il prodotto a R_f maggiore **201a** si scioglie completamente anche in solventi meno polari (diclorometano, dietilere, etere isopropilico) mentre **201b** si scioglie completamente solo in metanolo e soltanto parzialmente negli altri citati. Per riscaldamento a 60 °C in metanolo per 48 ore i composti **201a** e **201b** non seguono lo stesso comportamento di **200a** e **200b**, ossia non si trasformano l'uno nell'altro. Quanto osservato sperimentalmente nelle trasposizioni in ambiente acido delle isosazolidine **192** e **193** ci ha portato ad approfondire lo studio dei dati spettroscopici di tali molecole per una corretta assegnazione delle loro strutture. In precedenza conducendo reazioni di SPIX-ATR su substrati analoghi non erano mai stati ottenuti due prodotti isomeri facilmente separabili per cromatografia su gel di silice.

Gli isomeri **200a** e **200b** mostrano notevoli differenze negli spettri ¹H-NMR in CD₃OD registrati con uno spettrometro a 400 MHz (**Figura 10**). Queste riguardano soprattutto i segnali di risonanza dei protoni 7-H, 5-H e 2-H. In particolare, per **200a** uno dei 7-H dà un dd a 3.65

ppm con $J= 11.0, 4.7$ Hz, mentre il segnale dell'altro 7-H non è stato risolto perché cade tra 3.87–3.71 ppm insieme ad altri segnali. Per il prodotto **200b** invece 7-Ha dà un dd a 4.03 ppm con $J= 10.8, 4.4$ Hz e 7-Hb dà un dd a 3.97 ppm $J=10.8, 6.2$ Hz. Inoltre i protoni 5-Ha e 5-Hb risuonano tra 3.87-3.70 ppm in **200a** e tra 3.44-3.33 ppm in **200b**, mentre il 2-H di **200a** risuona tra 4.33– 4.29 ppm, il 2-H di **200b** tra 3.76 –3.73 ppm (**Fig. 10**).

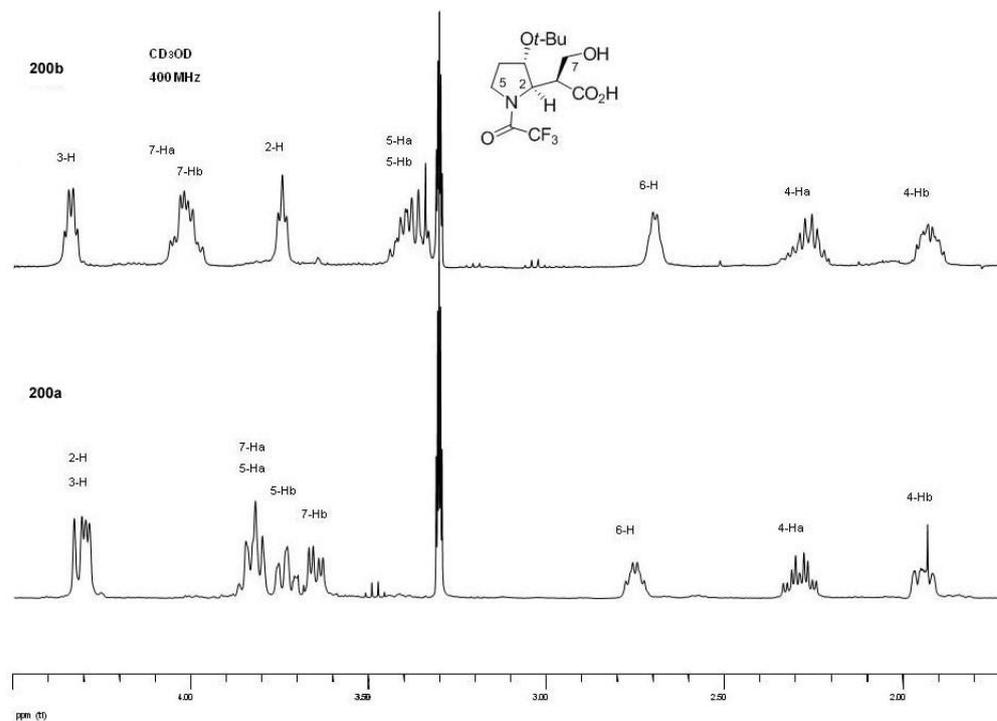


Fig. 10: Particolare degli spettri $^1\text{H-NMR}$ di **200a** e **200b** a confronto.

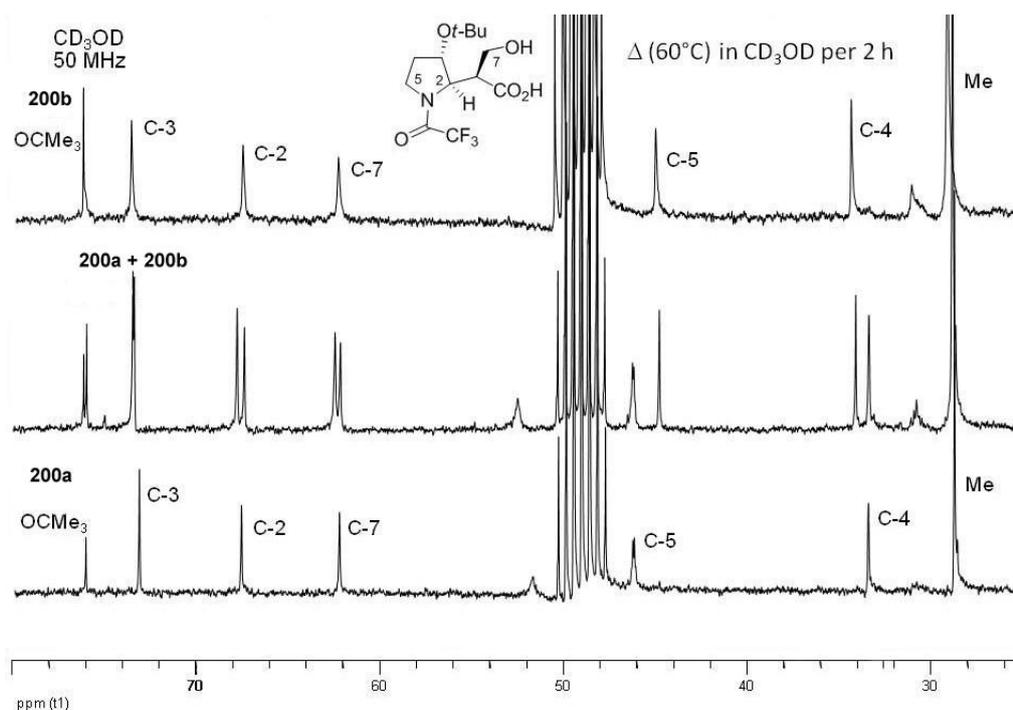


Fig. 11: Particolare degli spettri ^{13}C -NMR di **200a** e **200b** a confronto.

Lo spettro ^{13}C NMR della miscela dei due prodotti **200a** e **200b** in CD_3OD mostra due differenti *set* di segnali leggermente differenziati, di cui uno coincide con quello registrato sulla soluzione di **200a** puro. Lo spettro ^{13}C NMR della miscela riscaldata nello stesso solvente per 2 ore a 60°C presenta solo l'altro *set* di segnali a prova di essersi trasformata, a causa di tale trattamento, nel prodotto **200b** (**Fig. 11**).

Interessante è l'aspetto dei segnali relativi ai C-5 dei prodotti **200**. Infatti mentre per il prodotto **200a** si nota un accoppiamento del C-5 con il fluoro, il che è in accordo con la vicinanza dei due atomi nella struttura, lo stesso non si può dire per il prodotto **200b** per il quale il carbonio C-5 risuona come un singoletto. Questo dato sarebbe in accordo con la formazione di due β -amminoacidi **200a** e **200b** che fossero rispettivamente uno l'ammide e l'altro l'estere dell'acido trifluoroacetico, ovvero che fosse avvenuta una migrazione dell'anione dell'acido trifluoroacetico sul gruppo alcolico. Però questa ipotesi è da escludere dato che simili isomeri sono stati osservati anche con il derivato acetilato **201** nel quale manca il gruppo alcolico libero. Dallo spettro ^{19}F -NMR dei 2 prodotti **200a** e **200b** si sono osservati 2 singoletti, rispettivamente a -76.9 ppm e -77.0 ppm.

Gli spettri ^1H NMR di **201a** e **201b** appaiono molto simili, con differenze osservabili solo nel caso in cui questi siano registrati con uno spettrometro a 400 MHz. Il *chemical shift* del protone 6-H di **201b** (2.98 - 2.93 ppm in CD_3OD e 3.24 - 3.19 ppm in CDCl_3) è spostato rispetto a quello

dello stesso protone di **201a** (2.87-2.81 ppm in CD_3OD e 3.29-3.24 ppm in CDCl_3); inoltre anche il multipletto intorno a 4.35 ppm dovuto alla somma dei segnali dei tre atomi di idrogeno 7-Ha, 2-H, 3-H ha una forma leggermente diversa rispetto a quella osservata nel prodotto **201b** (Fig. 12 e 13). Gli atomi di fluoro per **201a** e **201b** risuonano rispettivamente a -73.7 ppm e -77.1 ppm.

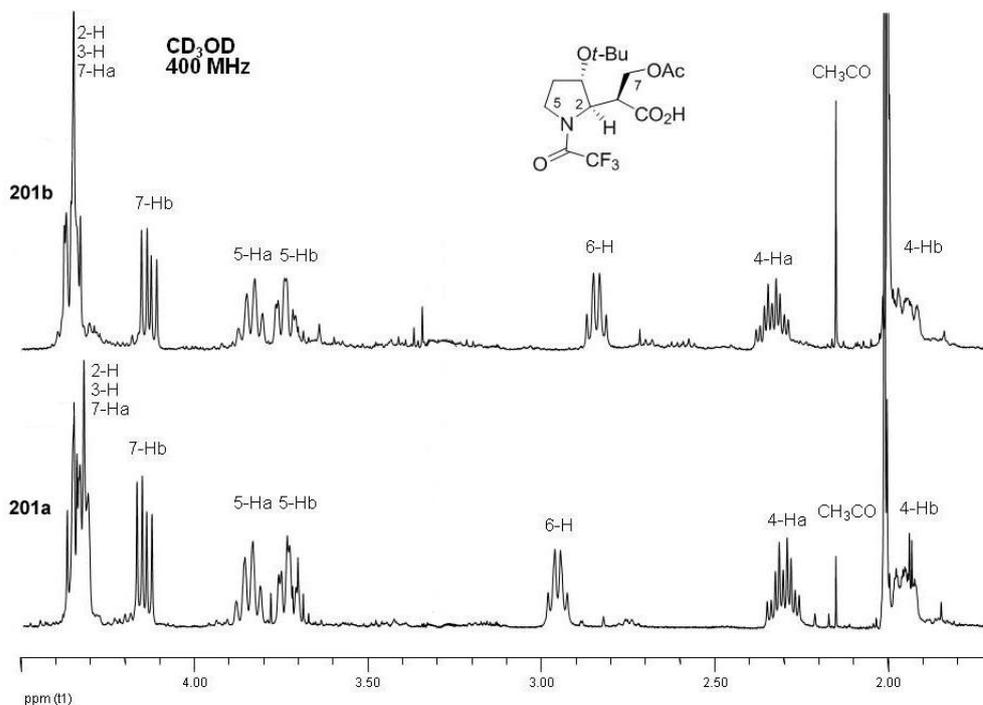


Fig. 12: Particolare degli spettri ^1H -NMR in CD_3OD di **201a** e **201b** a confronto.

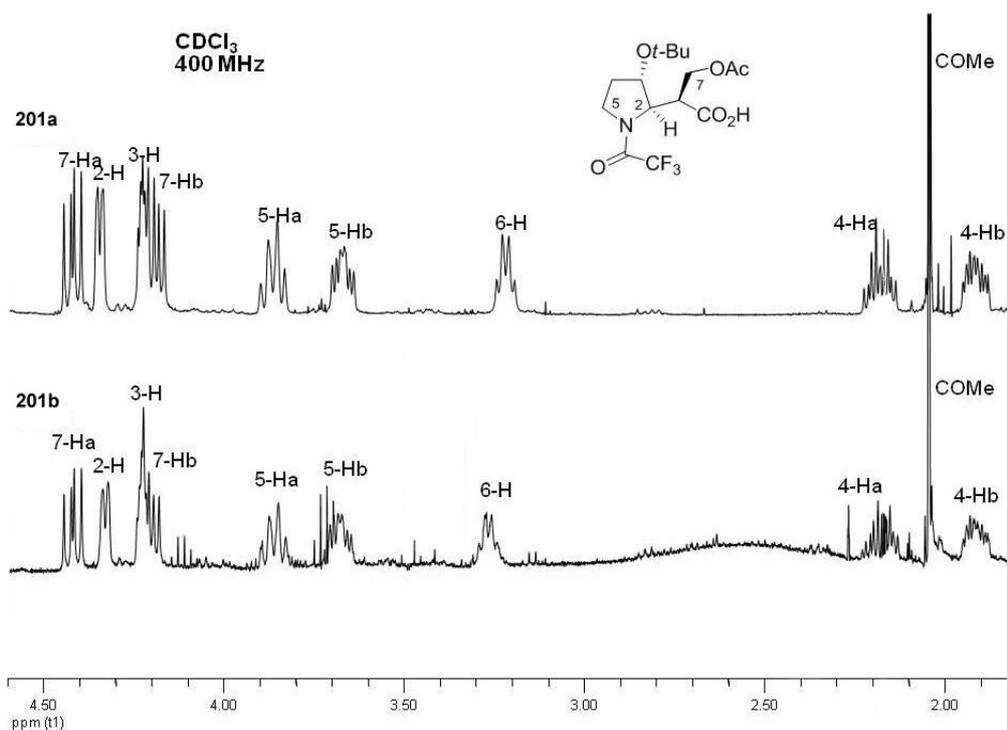


Fig. 13: Particolare degli spettri $^1\text{H-NMR}$ in CDCl_3 di **201a** e **201b** a confronto.

A questo punto l'ipotesi che si può fare, anche se ardua, e che vanta solo ipotesi non completamente avvalorate dalla letteratura^{146b,165,166} è che i due prodotti siano conformeri stabili del gruppo trifluoroacetammidico. Un'indicazione a questo proposito sembra venire dal segnale del C-5 negli spettri $^{13}\text{C-NMR}$ in CD_3OD nei due isomeri **200**. In un caso il segnale risente dell'accoppiamento con il gruppo CF_3 (46.2 ppm, q, $J_{\text{C,F}} = 4.6$ Hz), in accordo con una disposizione spaziale a "W" del sistema $\text{C}(5)\text{-N-C(O)-C-F}$ per il conformero *s-cis*. Nell'altro caso risulta un singoletto a 44.8 ppm. Questo dato ci permetterebbe addirittura di assegnare la struttura ai due conformeri (**Fig. 14**).

¹⁶⁵ Per separazioni via HPLC a basse temperature di formammidi e acetammidi vedi: Moriyasu, M.; Kato, A.; Hashimoto, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 939.

¹⁶⁶ Per altri esempi di pirrolidine *N*-trifluoroacetilate vedi: Cardona, F.; Goti, A.; Brandi, A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1475 e riferimento 9c.

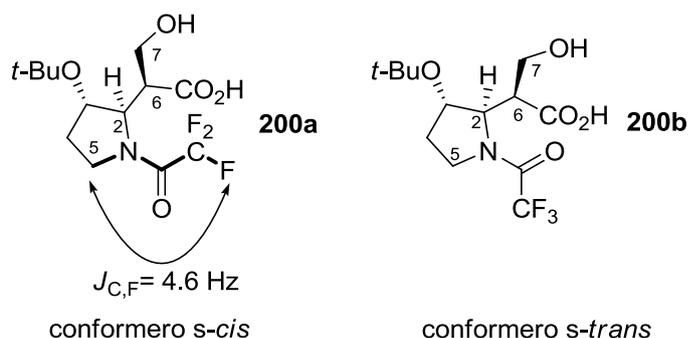


Fig. 14: Ipotesi di assegnazione dei due conformeri **200a** e **200b**.

Analogamente, per **201a** il segnale ^{13}C (in CDCl_3) del C-5 è un quartetto a 45.5 ppm con $J_{C,F} = 3.7 \text{ Hz}$, mentre per **201b** il segnale per il medesimo C è un singoletto a 46.2 ppm (in CD_3OD) quindi vale l'assegnazione di **Fig. 15**.

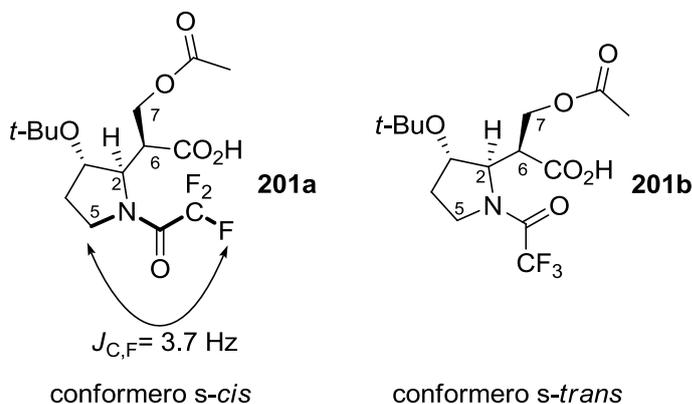


Fig. 15: Assegnazione dei due conformeri **201a** e **201b**.

Per i conformeri **201** si può supporre esista un equilibrio con energia di attivazione più alta rispetto ai conformeri **200**; questo spiegherebbe la loro stabilità allo stesso trattamento a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ in metanolo deuterato.

Effettuando il processo di ATR sull'isossazolidina **193**, in condizioni analoghe a quelle viste per gli altri 2 cicloaddotti (riscaldamento tramite microonde a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ per 5 minuti) si ottiene, dopo purificazione tramite colonna cromatografica un solo derivato β -omoprolinico **202** avente il gruppo amminico protetto come trifluoroacetammide, con una resa del 65%.

6.6 Sintesi di peptidi mirati all'attività antivirale contro HIV e HCV

Le β -omoprolina **126** e **127** sono in grado di mimare la struttura dipeptidica Pro-(ciclopropan)Gly contenuta in peptidi **203**, potenti inibitori della proteasi serinica NS3 del virus dell'epatite C (**Fig. 16**).¹⁶⁷

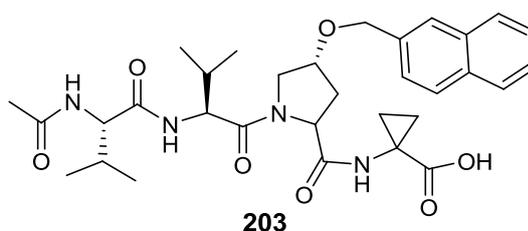


Fig.16: Inibitore della proteasi serinica NS3 del virus dell'epatite C

Numerosi esapeptidi e tripeptidi sono stati sintetizzati, e l'ottimizzazione della struttura ha evidenziato che un requisito per l'attività è rappresentato dalla presenza di gruppi arilmetilossi ingombrati sull'anello pirrolidinico.

I peptidi obiettivo del presente studio sono stati in particolare i tetrapeptidi **204a-c** ed i tripeptidi **205a-c** (**Fig. 17**)

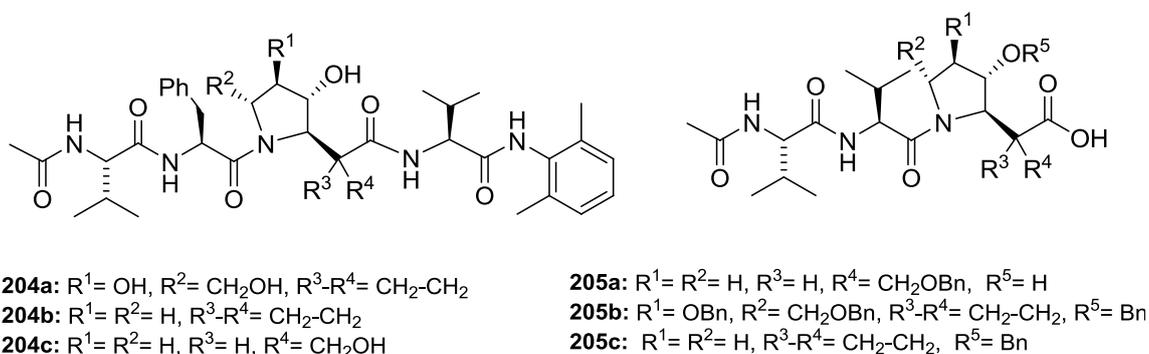
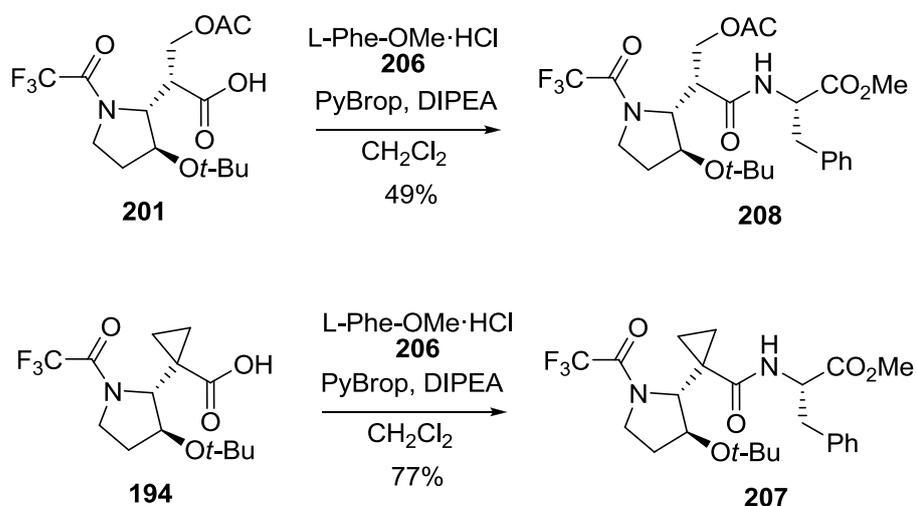


Fig. 17

¹⁶⁷ (a) Perni, R. B.; Pitlik, J.; Britt, S. D.; Court, J. J.; Courtney, L. F.; Deninger, D. D.; Farmer, L. J.; Gates, C. A. Harbeson, S. L.; Levin, R. B.; Lin, C.; Lin, K.; Moon, Y. -C.; Luong, Y. -P.; O'Malley, E. T.; Govinda Rao, B.; Thomson, J. A.; Tung, R. D.; Van Drie, J. H.; Wei, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *14*, 1441. (b) Llina s-Brunet, M.; Bailey, M. D.; Ghire, E.; Gorys, V.; Halmos, T.; Poirier, M.; Rancourt, J.; Goudreau, N. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6584. (c) Rancourt, J.; Cameron, D. R.; Gorys, V.; Lamarre, D.; Poirier, M.; Thibeault, D.; Llina s-Brunet *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2511. (d) Barros, T. G.; Pinheiro, S.; Williamson, J.; Tanuri, A.; Pereira, H. S.; Brindeiro, R. M.; Neto, J. B. A.; Antunes, O. A. C.; Muri, E. M. F. *Synthesis* **2009**, *4*, 620.

Le β -omoprolina sintetizzate hanno la conveniente caratteristica di essere protette all'N come trifluoroacetammidi e di avere la funzione acida libera, quindi possono essere direttamente impiegate nella sintesi peptidica.

Il gruppo carbossilico delle β -omoprolina **201** e **194** dà luogo a condensazione con L-Phe-OMe cloridrato **208** in condizioni standard utilizzando PyBrop come attivante e DIPEA, dando gli pseudopeptidi **208** e **207** con rese rispettivamente del 49 e 77% dopo purificazione su colonna cromatografica (**Schema 57**).

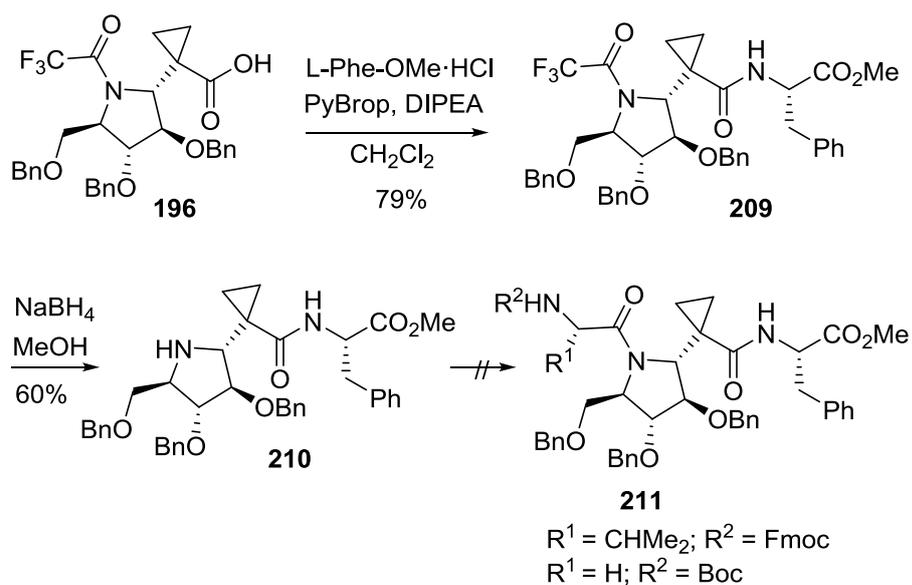


Schema 57: *Coupling* sulla funzione acida delle β -omoprolina **207** e **208**.

Nel nostro gruppo di ricerca, partendo dalla prolina chirale **168** già opportunamente protetta sui gruppi ossidrilici e sull'atomo di N, in modo analogo è stato facilmente sintetizzato il dipetide **209**.^{132b}

La deprotezione del gruppo amminico è avvenuta in modo efficace utilizzando il NaBH_4 in MeOH a temperatura ambiente per 5 ore portando all'ottenimento della β -omoprolina avente il gruppo amminico libero **210** con una resa del 60% (**Schema 54**).

Ogni tentativo di realizzare il successivo accoppiamento sul residuo N-terminale degli amminoacidi *N*-Fmoc-valina o del meno ingombrato *N*-Boc-glicina si è rivelato, però, fallimentare, probabilmente a causa dell'elevato ingombro sterico dell'atomo di azoto secondario ed in tutti i casi è stato recuperato solo il prodotto di partenza non reagito.

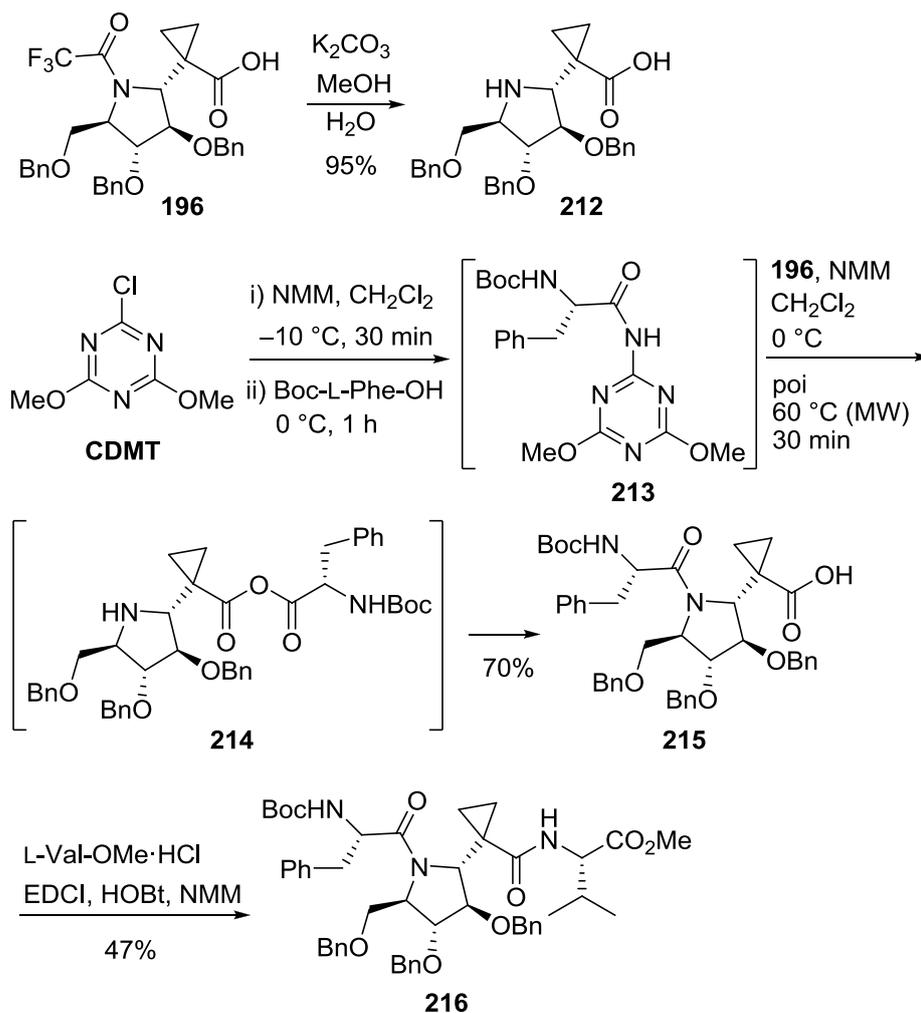


Schema 58.

Per risolvere il problema dell'alchilazione sull'atomo di N nel nostro gruppo di ricerca è stato deciso di effettuare inizialmente l'accoppiamento sul residuo *N*-terminale dell'omoprolina: a questo scopo invece che utilizzare la strategia in cui sono implicate reazioni intermolecolari e l'uso di reagenti di *coupling* di solito ingombrati, è stata adottata una diversa procedura che prevede una più semplice reazione di *N*-acilazione intramolecolare a partire dall'anidride mista (**Schema 55**)^{168,169}

¹⁶⁸ Imaki, K.; Niwa, H.; Sakuyama, S.; Okada, T.; Toda, M.; Hayashi, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 2699.

¹⁶⁹ Per un recente approccio ai dipeptidi di α -amminoacidi ingombrati attraverso la formazione di labili anidridi miste e reazioni associate, vedi: Brown, Z. Z.; Schafmeister, C. E. *J. Am Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14382, e riferimenti lì citati.



Schema 59: Sintesi dello pseudotriptide **216**

Dopo l'attivazione dell'acido L-Boc-Phe-OH con CDMT ed NMM, l'estere attivo intermedio **213** è stato quindi fatto reagire con l'acido carbossilico della prolina **212** in presenza di NMM,¹⁷⁰ ottenendo il dipeptide desiderato **215** con ottime rese. L'uso delle microonde ha permesso di ridurre i tempi di reazione da 20 ore (temperatura di 20 °C) a circa 30 minuti (temperatura di 60 °C). Il dipeptide **215**, a sua volta molto ingombrato, reagisce a dare il tripeptide desiderato **216** con maggiore difficoltà: tra i vari reagenti di *coupling* testati, i migliori sono risultati essere EDCI e HOBT, che hanno portato ad una resa del 47%. Il dipeptide **215** ed il tripeptide **216** possiedono già i requisiti minimi adatti per mostrare una certa attività di inibizione e sono stati testati presso l'Università di Trieste come inibitori della HIV-1 proteasi mediante la tecnica FRET

¹⁷⁰ (a) Kamiński, Z. J. *Synthesis* **1987**, 917. (b) Kamiński, Z. J. *Biopolymers (Pept. Sci.)* **2000**, 55, 140.

(*intramolecular fluorescence resonance energy transfer*).^{168,171} I valori di IC_{50} ottenuti (**Tab. 5**), dimostrano un certo grado d'interazione delle molecole testate con il sito attivo dell'enzima, seppur ancora insoddisfacente.

Composto	IC_{50} (μM)
215	36.7
216	64.5

Tab. 5

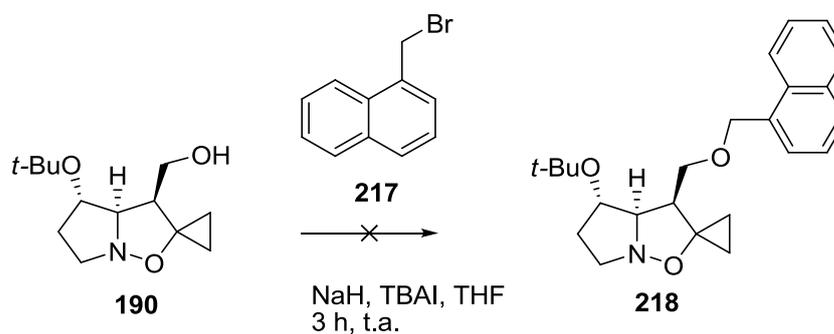
L'interazione con l'enzima *target* forse potrebbe essere migliorata dopo la completa o parziale debenzilazione dei gruppi ossidrilici presenti su entrambi i peptidi in analisi.

A partire dal tripeptide **216** saranno effettuati ulteriori accoppiamenti utilizzando i reagenti standard impiegati in sintesi peptidica per ottenere il tetrapeptide **205a**.

Per sviluppare un analogo dell'inibitore della proteasi serinica NS3 del virus dell'epatite C **203** abbiamo valutato la possibilità di inserire una funzione naftilica sul pendaglio idrossimetilico inserito nella β -omoprolina **127** che mimi il gruppo *O*-naftilico presente nel peptide **203**. Per evitare che questa funzione potesse legarsi anche al gruppo acido abbiamo condotto la reazione di protezione della funzione ossidrilica sul cicloaddotto **190**, precursore della β -omoprolina **127**.

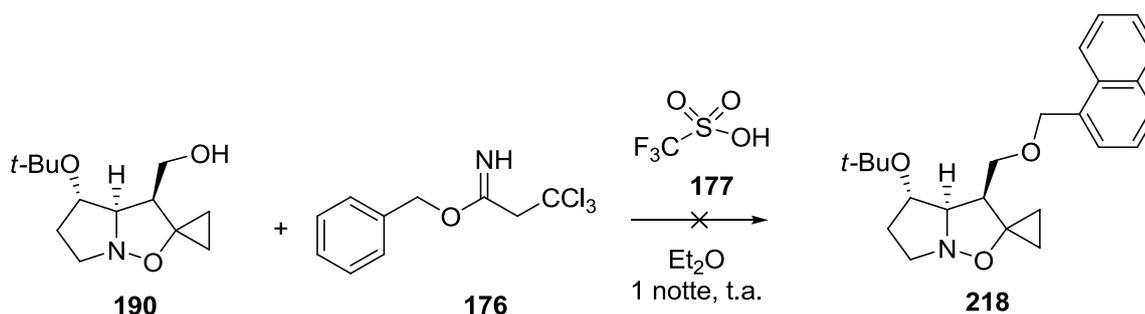
Effettuando la reazione di naftilazione con bromometilnaftile **217** in ambiente basico per la presenza di NaH in THF, a temperatura ambiente non è stato ottenuto il prodotto desiderato **218** ma solo prodotti derivanti dalla decomposizione del cicloaddotto di partenza (**Schema 60**).

Risultato analogo è stato raggiunto aggiungendo alla miscela di partenza TBAI per creare un miglior gruppo uscente sul residuo metilnaftilico.



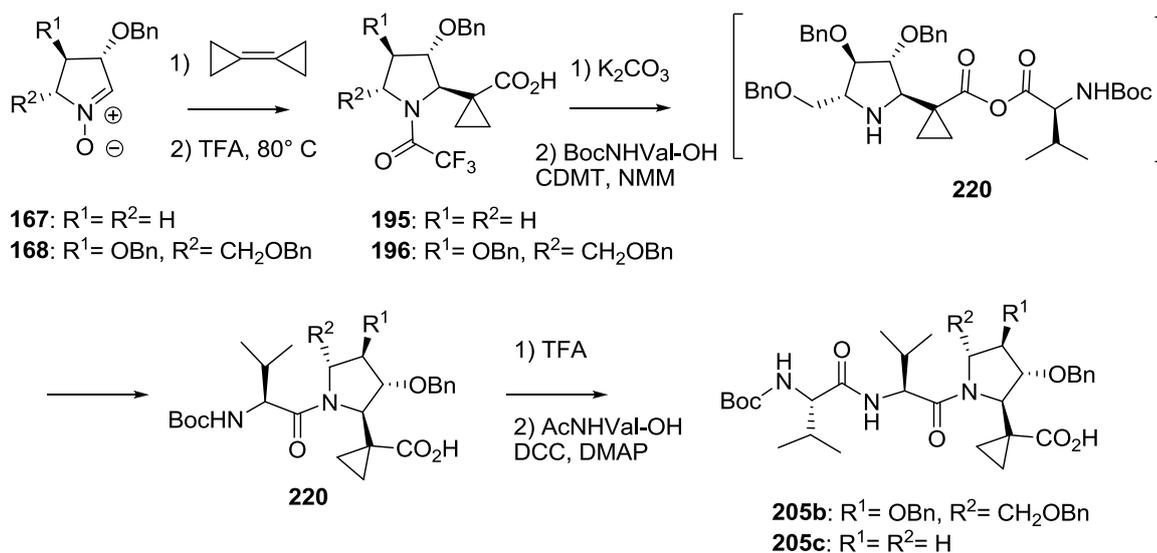
¹⁷¹ Lee, T.; Laco, G. S.; Torbett, B. E.; Fox, H. S.; Lerner, D. L.; Elder, J. H.; Wong, C. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1998), 95, 939.

Ritenendo che la decomposizione del cicloaddotto dipendesse dall'ambiente di reazione notevolmente basico per ottenere il derivato **218** è stata utilizzata la stessa procedura usata per la benzilazione del dietil-L-malato (**170**), cioè benzil-2,2,2-tricloroacetammidato (**176**) come agente benzilante in presenza di acido trifluorometansolfonico **177** per 12 h a temperatura ambiente (**Schema 61**). Anche in queste condizioni la reazione non ha avuto luogo, e si è osservata la decomposizione del reagente **190**.



Schema 61

L'obiettivo futuro sarà quello di ottenere i tripeptidi **205b,c**, seguendo la stessa strategia sintetica dell'anidride mista, a partire dai nitroni **167** e **168** e la valina, seguita dall'accoppiamento con un'altra unità di *N*-acetilvalina (**Schema 62**).



Schema 62

Lo studio dell'inibizione enzimatica nei confronti della proteasi serinica NS3 di HCV sarà effettuato dall'Unità di Ricerca di Trieste, mentre i saggi di citotossicità e dell'eventuale attività su cellula (test al replicone per HCV) sarà condotto dall'unità di Roma2. I dati dei test biologici suggeriranno ulteriori modifiche strutturali dei target proposti.

6.7 IMPIEGO DI β -OMOPROLINE COME ORGANOCATALIZZATORI

Negli ultimi anni la prolina e altre ammine chirali secondarie si sono dimostrate organocatalizzatori insuperabili nella α funzionalizzazione di composti carbonilici per la formazione di molecole chirali.^{172,173,174}

L'organocatalisi è un nuovo ramo della catalisi che utilizza piccole molecole organiche per accelerare processi chimici d'interesse industriale e non. La sua crescente importanza è legata alla versatilità degli organocatalizzatori (molecole organiche a basso peso molecolare in grado di lavorare in condizioni blande, cioè in presenza di ossigeno e di acqua nelle miscele di reazione, altamente efficienti e selettive, facilmente preparabili e non tossiche) e alla notevole ecocompatibilità e bassa tossicità dei processi organocatalitici dovuta al non utilizzo di metalli di transizione.¹⁷⁵

La caratteristica principale degli organocatalizzatori è la capacità di mimare l'attività catalitica e la selettività degli enzimi senza metalli mediante interazioni analoghe a quelle implicate dai biocatalizzatori nei sistemi viventi (legami ad idrogeno, forze di Van der Waals, elettrostatiche, interazioni idrofobiche e quelle dipolari).

Le proline si sono dimostrate catalizzatori generali, efficienti ed enantioselettivi principalmente per le reazioni aldoliche¹⁷⁶, di Mannich¹⁷⁷ e di Michael¹⁷⁸ ed esempi di substrati su cui sono effettuate tali reazioni in modo enantioselettivo stanno continuamente crescendo.

¹⁷² Per *reviews* di reazioni catalizzate da proline, vedi: (a) List, B. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5573. (b) Jarvo, E. R.; Miller, S. J. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2481. (c) Notz, W.; Tanaka F.; Barbas III, C. F. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 580.

¹⁷³ Per recenti *reviews* sull'ammminocatalisi, vedi: a) Barbas III, C. F. *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 44; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 42. (b) Melchiorre, P.; Marigo, M.; Carlone, A.; Bartoli, G. *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6232; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6138. (c) Mukherjee, S.; Yang, J. W.; Hoffmann, S.; List, B. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5471.

¹⁷⁴ Per un commento sull'avvento dell'organocatalisi asimmetrica, vedi: MacMillan, D. W. C. *Nature* **2008**, *455*, 304.

¹⁷⁵ Per *reviews* selezionate, vedi: (a) Dalko, P. I.; Moisan, D. L. *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5248; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5138. (b) Dalko, P.I.; Moisan, L. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2004**.

¹⁷⁶ (a) Bahmanyar, S.; Houk, K. N.; Martin, H. J.; List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2475. (b) Bøgevig, A.; Kumaragurubaran, N.; Jørgensen, K. A. *Chem. Commun.* **2002**, 620. (c) Kofoed, J.; Nielsen, J.; Reymond, J. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2445. (d) Loh, T. P.; Feng, L. C.; Yang, H. Y.; Yang, J. Y. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8741. (e) Martin, H. J.; List, B. *Synlett* **2003**, 1901. (f) Northrup, A. B.; MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6798. (g) Northrup, A. B.; Mangion, I. K.; Hettche, F.; MacMillan, D. W. C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 2152. (h) Tang, Z.; Jiang, F.; Yu, L. T.; Cui, X.; Gong, L. Z.; Mi, A. Q.; Jiang, Y. Z.; Wu, Y. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5262.

¹⁷⁷ (a) List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9336. (b) Cordova, A. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 102. (c) Notz, W.; Tanaka, F.; Watanabe, S.; Chowdari, N. S.; Turner, J. M.; Thayumanavan, R.; Barbas III, C. F. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9624. (d) Pojarliev, P.; Biller, W. T.; Martin, H. J.; List, B. *Synlett*, **2003**, 1903. (e) Chowdari, N. S.; Ramachary D. B.; Barbas III, C. F. *Synlett* **2003**, 1906. (f) Cordova, A. *Synlett* **2003**, 1651. (g) Hayashi, Y.; Tsuboi, W.; Shoji, M.; Suzuki, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11208. (h) Hayashi, Y.; Tsuboi, W.; Ashimine, I.; Urushima, T.; Shoji, M.; Sakai, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 3677. (i) Cordova, A.; Barbas III, C. F. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1923. (l) List, B.; Pojarliev, P.; Biller, W. T.; Martin, H. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 827.

Studi computazionali^{176a,179} e sperimentali¹⁸⁰ sulla reazione aldolica catalizzata dalla prolina hanno supportato l'ipotesi che il meccanismo implicato, basato sull'attivazione del prodotto di partenza tramite formazione dell'enammina, sia analogo a quello accettato per le reazioni aldoliche enzimatiche.¹⁸¹ Questi studi hanno mostrato che la funzione acida è essenziale per avere una buona attività catalitica ed un'alta selettività (modello di List-Houk).^{176a}

Dato l'interesse rivolto negli ultimi anni all'utilizzo delle (*S*)-omoprolina e ai derivati omoprolinici¹⁸² in processi organocatalitici abbiamo deciso di testare due delle β -omoprolina sintetizzate **212** e **221**, ottenute per deprotezione della funzione amminica delle omoprolina **196** e **194** con K_2CO_3 , come organocatalizzatori in queste reazioni. Le due reazioni scelte, effettuate nei laboratori del prof. Cozzi e dal prof. Benaglia dell'Università di Milano, sono state la condensazione aldolica di acetone **222** e cicloesanoone **223** con la 4-nitrobenzaldeide **224**, due reazioni modello per questo tipo di catalisi (**Schema 63**). Dall'analisi NMR effettuato sui prodotti grezzi di reazione è stato osservato che solo **221** promuove un minimo le reazioni: 7.5% con il cicloesanoone **223**, 38.4% con l'acetone **222**.

Per quest'ultima reazione l'ee del prodotto isolato, determinato via HPLC su colonna chirale, è risultato essere 11% e la configurazione dello stereocentro formato nel prodotto maggioritario, per analogia con analisi analoghe, è stata assegnata come R.

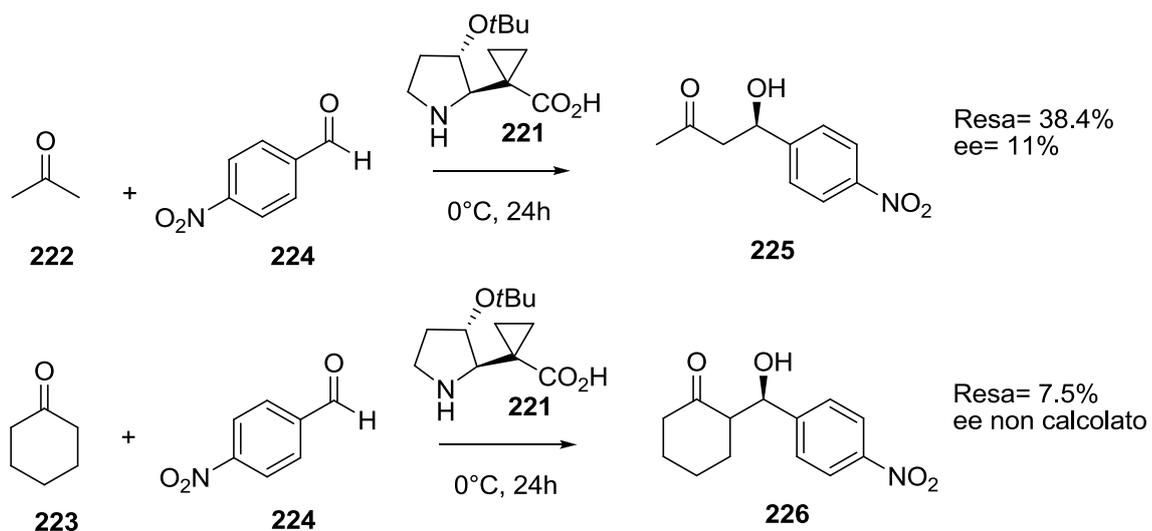
¹⁷⁸ (a) List, B.; Pojarliev P.; Martin, H. J. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2423. (b) Betancort, J. M.; Barbas III, C. F. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3737. (c) Enders, D.; Seki, A. *Synlett* **2002**, 26. (d) Gryko, D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 1377. (e) Mangion, I. K.; MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3696.

¹⁷⁹ (a) Bahmanyar, S.; Houk, K. N.; Martin, H. J.; List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2475. (b) Allemann, C.; Gordillo, R.; Clemente, F. R.; Cheong, P. H. Y.; Houk, K. N. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 558. (c) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11273. (d) Bahmanyar, S.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12911. (f) Clemente, F. R.; Houk, K. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5766.

¹⁸⁰ (a) List, B.; Hoang, L.; Martin, H. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 5839. (b) Hoang, L.; Bahmanyar, S.; Houk, K. N.; List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 16. (c) Zotova, N.; Franzke, A.; Armstrong, A.; Blackmond, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15100. (e) Zhu, H.; Clemente, F. R.; Houk, K. N.; Meyer, M. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1632.

¹⁸¹ List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395.

¹⁸² (a) Terakado, D.; Takano, M.; Oriyama, T. *Chem. Lett.* **2005**, *34*, 962. (b) Mitchell, C. E. T.; Cobb, A. J. A.; Ley, S. V. *Synlett* **2005**, 611. (c) Tsandi, E.; Kokotos, C. G.; Kousidou, S.; Ragoussis, V.; Kokotos, G. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1444. (d) Barbayanni, E.; Bouzi, P.; Constantinou-Kokotou, V.; Ragoussis, V.; Kokotos G. *HETEROCYCLES* **2009**, *78*, 1243.



Schema 63

Una spiegazione dell'insuccesso nell'impiego delle β -omproline **212** e **221** come organocatalizzatori può derivare dalla presenza dell'anello ciclopropanico in α alla funzione acida in queste strutture, che ne peggiora la capacità donatrice di un legame ad idrogeno necessaria per la stabilizzazione dello stato di transizione della reazione aldolica.

6.8 Conclusioni

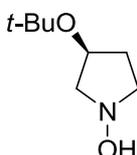
- L'obiettivo di questo lavoro era la sintesi di β -omoproline diversamente sostituite che, oltre a rappresentare interessanti sintoni in chimica organica, possono trovare varie applicazioni nel campo della peptidomimetica.
- La metodologia sintetica utilizzata per ottenere tali derivati consta di due *steps*: 1) cicloaddizione 1,3-dipolare tra nitroni ciclici chirali, facilmente ottenibili da molecole del *pool* chirale con derivati del ciclopropilidene e 2) trattamento termico in condizioni acide dei cicloaddotti ottenuti.
- I dipolarofili utilizzati nella 1,3-DC sono stati il BCP **151** e l'etil propilideneacetato **162**. L'impiego del BCP **151** ha permesso di introdurre in α al gruppo acido un anello ciclopropanico tensionato che può ridurre la libertà conformazionale della molecola e, eventualmente, di un peptide all'interno del quale questa viene inserita. Con l'etil propilideneacetato **162** si può introdurre in α , tramite successiva riduzione della funzione esterea, un pendaglio facilmente funzionalizzabile.
- Le β -omoproline sintetizzate sono protette sull'N ed hanno la funzione acida libera, quindi possono essere direttamente impiegate nella sintesi peptidica. Dati i problemi riscontrati per l'accoppiamento di tali substrati sulla funzione amminica è stata ideata una diversa procedura che prevede una più semplice reazione di *N*-acilazione intramolecolare a partire dall'anidride mista. In questo modo sono stati sintetizzati alcuni di- e tripeptidi aventi una potenziale attività come inibitori di proteasi virali per patologie come l'HIV e HCV.
- Due β -omoproline sintetizzate sono state testate come organocatalizzatori in una "classica" reazione aldolica ma soltanto una ha mostrato di promuovere la reazione anche se con basse rese e scarsi eccessi enantiomerici.

6.9 PARTE SPERIMENTALE

ACRONIMI UTILIZZATI:

Ac= acetato, Ar= aril, Et= etil, Me= metil, BCP= biciclopropilidene, Bu= butil, Ph= fenil, THF= tetraidrofurano, DCM= diclorometano, *c*-Pr= ciclopropil, DMAP= 4-dimetilamminopiridina, DIC= *N,N*-diisopropilcarbodiimide, DIBAL= diisobutilalluminio, Bn= benzil, DIPEA= diisopropiletilammina, NMM= *N*-metilmorfolina, CDMT= 1-Cloro-3,5-dimetossitriazina, TEA= trietilammina, TFA= acido trifluoroacetico, PyBrop= (Benzotriazol-1-ilossi)tripirrolidinofosfonio esafluorofosfato, HoBt= 1-idrobenzotriazolo, EDCI= 1-etil-3-(3-dimetilamminopropil)carbodiimide

(3*S*)-3-*t*-Butossi-*N*-idrossipirrolidina (174):



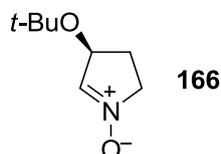
Una sospensione di dimesilato **173** 0.3 M (8.82 g, 26.7 mmol) e idrossilamina cloridrata (8.22 g, 118 mmol, 4.4 eq.) in trietilammina (85 mL) viene scaldata a riflusso per 4 ore. La trietilammina viene evaporata sotto vuoto e dal solido bianco rimanente viene estratto il prodotto tramite lavaggi con dietiletere. Viene ottenuta l'*N*-idrossipirrolidina **174** (olio giallo chiaro) con una resa sul grezzo quantitativa. Un campione analitico è stato ottenuto mediante purificazione su colonna cromatografica.

174: R_f = 0.39 (AcOEt); $[\alpha]_D^{25}$ = +1.7 (c = 4.41, CH₂Cl₂); **¹H-NMR (200 MHz):** δ = 4.32 (m, 1H; 3-H), 3.24 (dd, J = 12.0, 7.0 Hz, 1H; 5-Ha), 3.22 (m, 1H; 2-Ha), 3.00 (m, 1H; 2-Hb), 2.89 (dd, J = 12.0, 5.0 Hz, 1H; 5-Hb), 2.20 (m, 1H; 4-Ha), 1.70 (m, 1H; 4-Hb), 1.18 (s, 9H; *t*Bu); **¹³C-NMR (50 MHz):** δ = 73.5 (s; C(CH₃)₃), 69.8 (d; C-3), 66.2 (t; C-2), 57.6 (t; C-5), 32.3 (t; C-4), 28.3 (q, 3C; C(CH₃)₃); **IR:** ν = 3575, 3180, 2972, 1455, 1380, 1360, 1185; **analisi elementare** calcolata per C₈H₁₇NO₂ (159.32): C, 60.32; H, 10.76; N, 8.83; trovata: C, 60.11; H, 10.51; N, 8.46.

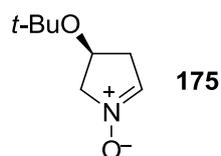
(3*S*)-*t*-Butossi-1-pirrolina *N*-ossido (166) e (4*S*)-4-*t*-butossi-1-pirrolina *N*-ossido (175):

Ad una soluzione di *N*-idrossipirrolidina **174** grezza (4.25 g, 26.7 mmol) in diclorometano (108 ml, soluzione 0,25 M) viene aggiunto lentamente a 0 °C il diossido di manganese attivato (2.77 g, 31.9 mmol, 1.2 eq.) e la sospensione viene lasciata per 3 ore a 0 °C. Per completare la reazione vengono aggiunti altri 0.5 eq. di diossido di manganese e la miscela lasciata reagire per un'altra ora. La sospensione viene filtrata sotto vuoto su strati consecutivi di silice, celite e solfato di sodio con solventi in gradiente di polarità a partire da diclorometano, poi acetato di etile, diclorometano/metanolo 10:1, fino a metanolo. La purificazione e separazione dei due nitroni regioisomeri ottenuti **166** e **175** viene fatta tramite cromatografia su gel di silice con eluente diclorometano/metanolo: 20/1.

Resa per **166** (solido bianco) 74%, resa per **175** (olio giallo) 11%.

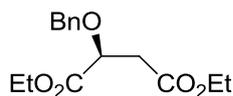


166: $R_f = 0.50$ (diclorometano/metanolo: 10/1); **p.f.** = 70-72 °C; $[\alpha]_D^{25} = -84.3$ ($c = 1.3$, CH_2Cl_2); **$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz):** $\delta = 6.79$ (q, $J = 1.8$ Hz, 1H; 2-H), 4.80 (m, 1H; 3-H), 4.14-4.00 (m, 1H; 5- H_a), 3.83 (m, 1H; 5- H_b), 2.49 (dddd, $J = 13.3, 9.6, 6.0, 3.8$, 1H; 4- H_a), 2.09 (dddd, $J = 13.2, 9.4, 5.9, 3.7$, 1H; 4- H_b), 1.18 (s, 9H; *t*Bu); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz):** $\delta = 135.6$ (d; C-2), 74.5 (d; C-3), 71.2 (s; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 61.0 (t; C-5), 29.9 (t; C-4), 28.0 (q, 3C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); **IR (CHCl_3):** $\nu = 3600, 3406, 2972, 1711, 1583, 1460, 1365, 1180, 1066$; **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2$ (157.32): C 61.10, H 9.61, N 8.94; trovata: C 61.35, H 9.35, N 9.24.



175: $R_f = 0.39$ (diclorometano/metanolo: 10/1); **$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz):** $\delta = 6.83$ (m, 1H; 2-H), 4.49 (dq, $J = 3.3, 7.0$ Hz, 1H; 4-H), 4.10 (m, 1H; 5- H_a), 3.72 (m, 1H; 5- H_b), 3.02 (m, 1H; 3- H_a), 2.65 (m, 1H; 3- H_b), 1.17 (s, 9H; *t*Bu); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz):** $\delta = 133.4$ (d; C-2), 71.2 (s; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 69.1 (t; C-5), 65.3 (d, C-4), 38.9 (t; C-3), 28.1 (q, 3C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

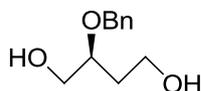
Dietil (2*S*)-2-(benzilossi)succinato (178):



In un pallone contenente Et₂O anidro (110 mL) in presenza di setacci molecolari attivati sotto flusso di N₂ a 0 °C vengono aggiunti dietil (S)-malato (**170**) (2.09 g, 10.99 mmol), benziltricloroacetammidato **176** (4.084 mL, 21.98 mmol) e acido triflico **177** (1.151 mL, 13.19 mmol). La soluzione viene lasciata sotto agitazione magnetica per un giorno, vengono filtrati i setacci molecolari, viene lavata con una soluzione satura di Na₂CO₃, le fasi organiche vengono riunite, seccate su Na₂SO₄ e concentrate. Il prodotto grezzo viene purificato tramite cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 5/1). Vengono ottenuti 3.02 g di olio incolore **178** (resa 98%).

178: R_f = 0.31 (etere di petrolio/AcOEt: 10/1); $[\alpha]_D^{23}$ = -59.9 (c = 6.8, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz)**: δ = 7.38-7.26 (m, 5H; Ph), 4.77 (d, J = 11.4 Hz, 1H; PhCH₂), 4.55 (d, J = 11.4 Hz, 1H; PhCH₂), 4.39 (dd, J = 5.2, 7.7 Hz, 1H; -CHOBn), 4.27-4.10 (m, 4H; CH₃CH₂O-), 2.85-2.72 (m, 2H; -OCHCH₂CO-), 1.30, 1.24 (t, J = 7.12, 7.12 Hz, 6H; CH₃CH₂O-); **¹³C-NMR (50 MHz)**: δ = 171.3 (s; CO), 170.0 (s; CO), 137.2 (s; Ph), 128.8 (d; Ph), 128.3 (d, 2C; Ph), 127.8 (d, 2C; Ph), 74.6 (d; COCH-), 73.0 (t; Ph-CH₂O-), 61.2 (t; CH₂CH₃), 60.9 (t; CH₂CH₃), 38.1 (t; -COCH₂CH-), 14.1 (q, 2C; CH₃); **IR**: ν = 1733, 1455, 1376, 1275, 1175, 1114, 1028; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 271 (31), 179 (51), 174 (100), 165 (35), 128 (97), 91 (81), 55 (21); **analisi elementare** calcolata per C₁₅H₂₀O₅ (280.32): C 64.27, H 7.19; trovata: C 64.04, H 7.25.

(2S)-2-(Benzilossi)butan-1,4-diolo (179):

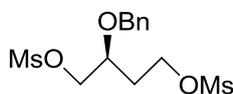


Ad una soluzione di LiAlH₄ (2.771 g, 14.12 mmol) in THF anidro (32 mL) viene aggiunta g.a.g. sotto flusso di N₂ una soluzione del prodotto di partenza **178** (3.042 g, 10.86 mmol) in THF anidro (16 mL). La soluzione così ottenuta viene lasciata sotto agitazione magnetica a

temperatura ambiente in atmosfera di N_2 per 18 ore e poi, per completare la reazione, viene scaldata per 30 minuti a $60\text{ }^\circ\text{C}$. Per il quench viene aggiunta a $0\text{ }^\circ\text{C}$ una soluzione satura di NaHCO_3 (50 mL) e Et_2O (50 mL) e la fase organica estratta viene seccata su Na_2SO_4 e concentrata a pressione ridotta. Si ottiene con resa quantitativa un olio giallo **179** che è stato impiegato nello *step* successivo senza un'ulteriore purificazione.

179: $R_f = 0.38$ (etere di petrolio/AcOEt: 1/2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.38\text{-}7.25$ (m, 5H; Ph), 4.59 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.55 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H; PhCH_2), 3.77-3.62 (m, 4H; $-\text{CH}_2\text{OH}$), 3.58-3.48 (m, 1H; $-\text{CHOBn}$), 3.07-2.96 (br, 2H; OH), 1.89-1.68 (m, 2H; $-\text{OCHCH}_2\text{CH}_2-$).

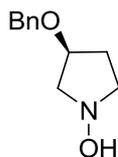
(2S)-2-(Benzilossi)-4-[(metilsolfonil)ossi]butil metansolfonato (180):



Ad una soluzione di diolo **179** (2.1 g, 10.84 mmol) in diclorometano anidro (80 mL) vengono aggiunti g.a.g. a $0\text{ }^\circ\text{C}$ in atmosfera di N_2 mesilcloruro distillato (1.8 mL, 23.04 mmol) e trietilammina anidra (4.3 mL). La miscela risultante viene lasciata a temperatura ambiente per 4 ore, poi raffreddata a $0\text{ }^\circ\text{C}$ e trattata con una soluzione di HCl 5 M (15 mL), lavata con una soluzione satura di NaHCO_3 (30 mL) ed infine con brine. Le fasi organiche riunite sono state seccate su Na_2SO_4 e concentrate a pressione ridotta. Il prodotto **180** grezzo (olio giallo), ottenuto con resa quantitativa, è stato utilizzato nello *step* successivo senza ulteriore purificazione.

180: $R_f = 0.42$ (etere di petrolio/AcOEt: 3/2); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.34\text{-}7.21$ (m, 5H; Ph), 4.63 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.49 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.35-4.21, 4.17-4.10 (2m, 4H; $-\text{CH}_2\text{OMs}$), 3.84-3.77 (m, 1H; $-\text{CHOBn}$), 2.94 (s, 3H; CH_3), 2.88 (s, 3H; CH_3), 2.01-1.87 (m, 2H; $-\text{OCHCH}_2\text{CH}_2-$).

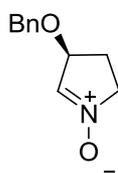
(3S)-3-(Benzilossi)pirrolidin-1-olo (181):



Una sospensione del dimesilato **180** (3.279 g, 10.84 mmol) e idrossilammina cloridrata (3.646 g, 52.47 mmol) in NEt_3 (70 mL) viene scaldata a riflusso per 6 ore in atmosfera di N_2 . Il solvente viene evaporato a pressione ridotta e il prodotto solido giallo ottenuto viene lavato più volte con Et_2O . La fase eterea viene concentrata a pressione ridotta per ottenere l'idrossilammina **181** come olio giallo, che viene utilizzata nello *step* successivo senza ulteriore purificazione.

181: $R_f = 0.34$ (*n*-esano/AcOEt: 1/1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.42\text{-}7.25$ (m, 5H; Ph), 4.53 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.47 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.30-4.18 (m, 1H; 3-H), 3.33-3.11 (m, 3H; 5-H, 2-Ha), 3.10-2.99 (m, 1H; 2-Hb), 2.30-2.13 (m, 1H; 4-Ha), 2.02-1.85 (m, 1H; 4-Hb).

(3S)-3-Benzilossi-1-pirrolina N-ossido (167):

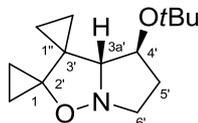


Ad una soluzione di idrossilammina **181** (2.014g, 10.43 mmol) in DCM (80 mL) viene aggiunto in piccole porzioni MnO_2 attivato (1.178 mg, 13.55 mmol) a 0 °C. La miscela di reazione viene tenuta sotto agitazione magnetica per un'ora a 0 °C e poi a temperatura ambiente per tutta la notte. La sospensione viene filtrata sotto vuoto su strati consecutivi di silice, celite e solfato di sodio rilavando con AcOEt e la soluzione ottenuta viene concentrata a pressione ridotta. Tramite purificazione con cromatografia su gel di silice (eluente: metanolo/acetato di etile: 5/1) viene ottenuto il nitrone **167** puro (837 mg) con una resa complessiva su 4 passaggi del 31 %.

167: $R_f = 0.23$ (AcOEt); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.38\text{-}7.28$ (m, 5H; Ph), 6.94 (q, $J = 1.8$ Hz, 1H; 2-H), 4.77-4.63 (m, 1H; 3-H), 4.57 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.52 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H; PhCH_2), 4.19-4.11 (m, 1H; 5-Ha), 3.89-3.81 (m, 1H; 5-Hb), 2.56-2.48 (m, 1H; 4-Ha), 2.26-2.19 (dddd, $J = 13.8, 8.9, 4.9, 2.9$ Hz, 1H; 4-Hb); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz): $\delta = 137.2$ (s; Ph), 133.8 (d; C-

2), 128.6 (d, 2C; Ph), 128.1 (d; Ph), 127.8 (d, 2C; Ph), 78.2 (d, C-3), 71.5 (t; $\underline{C}H_2Ph$), 61.3 (t; C-5), 27.6 (t; C-4); **IR**: ν = 2867, 1583, 1455, 1356, 1271, 1085, 1070, 1042.

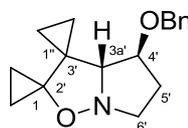
(3'aR,4'S)-4'-t-Butossitetraidrodispiro[ciclopropano-1,2'(3'H)-pirrolo[1,2-b]isossazolo-3',1''-ciclopropano] (185):



Una soluzione di **166** (775 mg, 4.9 mmol) e **151** (811 mg, 10.1 mmol) in toluene (5 mL) viene scaldata in un tubo Sovirel a 60 °C per due giorni. Il solvente viene rimosso a pressione ridotta e il prodotto grezzo viene purificato tramite cromatografia *flash* su gel di silice (eluente: Et₂O/etere di petrolio 2:1) per dare **185** (849 mg, 73 % resa) come olio incolore.

185: R_f = 0.30 (Et₂O/etere di petrolio: 2/1); $[\alpha]_D^{25}$ = +13.2 (c = 0.34, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz)**: δ = 4.11 (dt, J = 6.0, 3.9, 1H; 4'-H), 3.46-3.26 (m, 2H; 6'-H), 3.33 (d, J = 6.0, 1H; 3a'-H), 2.27-2.12 (m, 1H; 5'-Ha), 1.72-1.58 (m, 1H; 5'-Hb), 1.15 (s, 9H; CH₃), 0.91-0.42 (m, 6H; *t*-Pr), 0.19-0.04 (m, 2H; *t*-Pr); **¹³C-NMR (50 MHz)**: δ = 79.3 (d; C-4'), 76.0 (d; C-3a'), 73.8 (s; $\underline{C}(CH_3)_3$), 65.9 (s; C-2'), 56.4 (t; C-6'), 34.3 (t; C-5'), 30.9 (s; C-3'), 28.7 (q, 3C; $\underline{C}(CH_3)_3$), 11.5, 10.4, 4.0, 3.9, (t; *t*-Pr); **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 237 (M⁺, 20), 180 (36), 153 (78), 152 (89), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per C₁₄H₂₃NO₂ (237.34): C 70.85, H 9.77, N 5.90; trovata: C 70.80, H 9.70, N 5.58.

(3a'R,4'S)-4'-Benzilossitetraidrodispiro[ciclopropano-1,2'-pirrolo[1,2-b]isossazolo-3',1''-ciclopropano] (186):

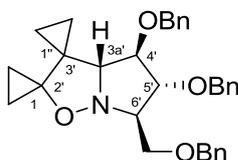


Una soluzione di nitrone **167** (518 mg, 2.71 mmol) e BCP **151** (478 mg, 5.96 mmol) in toluene (2.7 mL) viene scaldata in un tubo Sovirel a 60 °C per due giorni. Il solvente viene rimosso sotto vuoto e lo spettro ¹H-NMR eseguito sul prodotto grezzo mostra la formazione di un unico prodotto. Questo viene purificato tramite cromatografia flash su gel di silice (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 3/1) per dare **186** (559 mg, 76% resa) come olio incolore.

186: $R_f = 0.30$ (etere di petrolio/AcOEt: 3/1); $[\alpha]_D^{22} = +26.7$ ($c = 0.8$, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.37\text{--}7.26$ (m, 5H; Ph), 4.50 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H; OCH_2HPh), 4.42 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H; OCH_2HPh), 4.04 (ddd, $J = 3.1, 6.0, 8.9$ Hz, 1H; 4'-H), 3.56 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H; 3a'-H), 3.46-3.40 (m, 2H; 6'-H), 2.30-2.19 (m, 1H; 5'-Ha), 1.95-1.87 (dddd, $J = 3.2, 5.3, 8.4, 13.3$ Hz, 1H; 5'-Hb), 0.84-0.60 (m, 5H; *c*-Pr), 0.46-0.40 (m, 1H; *c*-Pr), 0.22-0.14 (m, 2H; *c*-Pr); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz): $\delta = 138.0$ (s; Ph), 128.4 (d, 2C; Ph), 127.7 (d; Ph), 127.6 (d, 2C; Ph), 83.8 (d; C-4'), 78.3 (d; C-3a'), 71.1 (t; OCH_2Ph), 66.3 (s; C-2'), 56.3 (t; C-6'), 30.9 (s; C-3'), 30.9 (t; C-5'), 11.4, 10.1, 4.6, 4.6 (t; *c*-Pr); **IR:** $\nu = 3002, 2946, 2864, 1454, 1357, 1179, 1071, 1027$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 271 (1) $[\text{M}^+]$, 256 (1), 242 (1), 180 (15), 166 (2), 152 (13), 108 (6), 91 (100), 69 (14), 41 (25); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (271.35): C 75.25, H 7.80, N 5.16; trovata: C 75.37, H 8.15, N 4.89.

(3a' R,4' R,5' R,6' R)-4',5'-Bis(benzilossi)-6'-

[(benzilossi)metil]tetraidrodispiro[ciclopropan-1,2'-pirrolo[1,2-*b*]isossazolo-3',1''-ciclopropano](187):



Una soluzione di nitrone **168** (370 mg, 0.89 mmol) e BCP **151** (125 μL , 1.33 mmol) in toluene (1 mL) viene riscaldata a 60 °C per 2 giorni. Dopo aver rimosso il solvente a pressione ridotta, il prodotto grezzo viene purificato tramite cromatografia su gel di silice (etere di petrolio/AcOEt: 3/1), per ottenere il cicloaddottoto **187** puro (322 mg, resa 73%) come un olio giallo pallido.

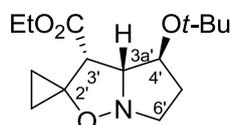
187: $R_f = 0.46$; $[\alpha]_D^{20} = -15.0$ ($c = 1.0$, CH_2Cl_2); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.36\text{--}7.25$ (m, 15 H; Ph), 4.70-4.50 (m, 6H; OCH_2Ph), 4.15 (dd, $J = 12.0, 5.9$ Hz, 1H; 4'-H), 4.13-4.09 (m, 1H; 5'-H), 3.74-3.69 (m, 3H; 6'-H, CH_2OBn), 3.59 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H; 3'a-H), 0.95-0.87 (m, 2H; *c*-Pr), 0.83-0.76 (m, 2H; *c*-Pr), 0.73-0.63 (m, 1H; *c*-Pr), 0.61-0.55 (m, 1H; *c*-Pr), 0.09 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H; *c*-Pr), 0.06 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H; *c*-Pr); $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz): $\delta = 138.3, 138.0, 137.9$ (s; Ph), 128.42 (d, 2C; Ph), 128.38 (d, 2C; Ph), 128.3 (d, 2C; Ph), 128.0 (d, 2C; Ph), 127.9 (d, 2C; Ph), 127.78 (d; Ph), 127.77 (d; Ph), 127.7 (d, 2C; Ph), 127.5 (d; Ph), 86.1 (d; C-4'), 83.2 (d; C-5'), 73.6 (t; OCH_2Ph),

73.09 (t; OCH_2Ph), 73.06 (d; C-3'a), 72.2 (t; OCH_2Ph), 69.0 (t; CH_2OBn), 68.7 (d; C-6'), 66.0 (s; ϵ -Pr), 30.7 (s; ϵ -Pr), 11.9, 11.8, 3.8, 1.3 (t; ϵ -Pr); **IR**: ν = 3033, 2865, 1455, 1364, 1098; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 498 (0.7, M^+), 406 (27), 376 (39), 179 (13), 150 (12), 136 (11), 91 (100); **analisi elementare** $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{NO}_4$ (497.62): calcolata C 77.24, H 7.09, N 2.81; trovata: C 77.23, H 7.13, N 2.83.

Etil (3'R, 3a'R, 4'S)- e (3'S, 3a'R, 4'S)-*t*-butossitetraidro-3'H-spiro[ciclopropano-[1,2'-b]isossazolo]-3'-carbossilato (188 e 190):

A una soluzione 1 M del nitrone **166** (747 mg, 4.75 mmol) in toluene (4.75 mL) viene aggiunto l'etil ciclopropilideneacetato (**162**) (787 mg, 6.23 mmol). La miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica per una notte a 30 °C. I prodotti ottenuti per evaporazione del solvente vengono separati e purificati per cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/ Et_2O : 4/1). Vengono così ottenuti 588 mg di **188** (olio giallino) e 86 mg di **190** (olio giallino), in rapporto 6:1 con una resa globale dell' 81% (69% di **188** e 12% di **189**).

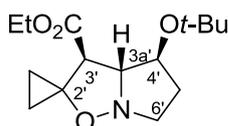
Etil (3'R, 3a'R, 4'S)-*t*-butossitetraidro-3'H-spiro[ciclopropano-1,2'-pirrolo[1,2'-b]isossazolo]-3'-carbossilato (188):



188: R_f = 0.22 (pentano/ AcOEt : 4/1); $[\alpha]_D^{23}$ = +55.2 (ϵ = 0.5, CHCl_3); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)**: δ = 4.23 (parte A di un sistema ABX_3 , J = 10.9, 7.1 Hz, 1H; CHH-CH_3), 4.18-4.14 (m, 1H; 4'-H), 4.16 (parte B di un sistema ABX_3 , J = 10.9, 7.1 Hz, 1H; CHH-CH_3), 4.03 (dd, J = 9.4, 2.6 Hz, 1H; 3a'-H), 3.44 (d, J = 9.4 Hz, 1H; 3'-H), 3.38 (ddd, J = 13.0, 7.1, 3.8 Hz, 1H; 6'-Ha), 3.25 (ddd, J = 13.0, 9.9, 6.2 Hz, 1H; 6'-Hb), 2.31-2.22 (m, 1H; 5'-Ha), 1.74-1.68 (m, 1H; 5'-Hb), 1.30 (t, J = 7.1 Hz, 3H; $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.15 (s, 9H; $t\text{Bu}$), 1.07 (ddd, J = 11.0, 7.1, 5.9 Hz, 1H; ϵ -Pr), 0.97 (ddd, J = 11.0, 6.9, 5.2 Hz, 1H; ϵ -Pr), 0.87 (ddd, J = 10.3, 6.9, 5.9 Hz, 1H; ϵ -Pr), 0.62 (ddd, J = 10.3, 7.1, 5.1 Hz, 1H; ϵ -Pr); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz)**: δ = 170.9 (s; CO_2Et), 77.4 (d; C-4'), 73.8 (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 73.6 (d; C-3a'), 64.2 (s; C-2'), 60.7 (t; CH_2CH_3), 55.0 (t; C-6'), 53.8 (d; C-3'), 34.2 (t; C-5'), 28.3 (q; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 14.2 (q; CH_2CH_3), 12.7, 7.5 (t, 2C; ϵ -Pr); **IR**: ν = 2977, 1740, 1363, 1174; **MS** (70 eV,

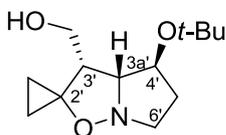
EI): m/z (%) = 283 (1) [M^+], 226 (18), 209 (11), 180 (14), 170 (60), 152 (13), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $C_{15}H_{25}NO_4$ (283.36): C 63.58, H 8.89, N 4.94; trovata: C 63.10, H 9.00, N, 5.26.

Etil (3'S, 3a'R, 4'S)-*t*-butossitetraidro-3'H-spiro[ciclopropano-1,2'-pirrolo[1,2-b]isossazolo]-3'-carbossilato (189):



189: R_f = 0.18 (etere di petrolio/AcOEt: 5/1); $[\alpha]_D^{23}$ = +115.0 (c = 0.4, $CHCl_3$); **1H -NMR (400 MHz):** δ = 4.19 (parte A di un sistema ABX_3 , J = 10.8, 7.1 Hz, 1H; $CHH-CH_3$), 4.15 (parte B di un sistema ABX_3 , J = 10.8 Hz, 7.1 Hz, 1H; $CHH-CH_3$), 4.08 (dd, J = 4.6, 3.0 Hz, 1H; 3a'-H), 4.05 (dt, J = 6.1, 3.2 Hz, 1H; 4'-H), 3.34 (ddd, J = 13.0, 9.0, 6.4 Hz, 1H; 6'-Ha), 3.32-3.27 (m, 1H; 6'-Hb), 3.16 (d, J = 4.6 Hz, 1H; 3'-H), 2.23 (dddd, J = 12.9, 9.0, 7.2, 6.2 Hz, 1H; 5'-Ha), 1.71 (dddd, J = 12.9, 6.3, 4.5, 3.5, Hz, 1H; 5'-Hb), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H; CH_2-CH_3), 1.17 (s, 9H; tBu), 1.10-1.02 (m, 1H; i -Pr), 0.94-0.79 (m, 2H; i -Pr), 0.73-0.66 (m, 1H; i -Pr); **^{13}C -NMR (50 MHz):** δ = 170.0 (s; CO_2Et), 77.1 (d; C-4'), 73.8 (s; $OC(CH_3)_3$), 73.1 (d; C-3a'), 63.9 (s; C-2'), 61.1 (t; CH_2CH_3), 56.0 (d; C-3'), 55.1 (t; C-6'), 33.0 (t; C-5'), 28.4 (q; $C(CH_3)_3$), 14.2 (q; CH_2CH_3), 9.6, 8.2 (t; i -Pr); **IR:** ν = 2977, 1745, 1363, 1261, 1179; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 283 (2) [M^+], 238 (3), 226 (23), 210 (7), 180 (11), 170 (20), 154 (16), 124 (38), 96 (46), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $C_{15}H_{25}NO_4$ (283.36): C 63.58, H 8.89, N 4.94; trovata: C 63.39, H 9.08, N 5.30.

(3'S, 3a'R, 4'S)-4'-*t*-Butossitetraidro-3'H-spiro[ciclopropano-1,2'-pirrolo[1,2-b]isossazol-3'-il] metanolo (190):

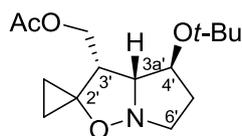


Ad una soluzione 0.3 M dell'isossazolidina **188** (261 mg, 0.92 mmol) in diclorometano (3.1 mL) viene aggiunta a 0 °C in atmosfera di N_2 una soluzione di DIBAL-H 1.0 M in esano (3.2 mL, 3.2 mmol, 3.5 eq. mol). Dopo aver lasciato la miscela di reazione sotto agitazione magnetica per un'ora, viene trattata prima con metanolo poi con una soluzione acquosa satura di tartrato di

potassio. La fase acquosa viene estratta con diclorometano, le fasi organiche riunite vengono seccate su Na_2SO_4 e per evaporazione del solvente vengono ottenuti 222 mg di prodotto **190** grezzo (resa sul grezzo quantitativa). 50 mg di prodotto grezzo vengono purificati tramite cromatografia su gel di silice con Et_2O /etere di petrolio: 10/1 come eluente, ottenendo 46 mg (resa sul prodotto purificato 92%) di prodotto **190** puro.

190: $R_f = 0.30$ (Et_2O /etere di petrolio: 10/1); $[\alpha]_D^{24} = -47.3$ ($c = 0.6$, CHCl_3); **p.f.** = 80-81 °C; **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)**: $\delta = 4.52$ (q, $J = 7.2$ Hz, 1H; 4'-H), 3.82 (dt, $J = 2.0, 10.6$ Hz, 1H; CHH-OH), 3.72 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H; 3a'-H), 3.49 (ddd, $J = 13.7, 8.9, 4.9$ Hz, 1H; 6'-Ha), 3.46 (dt, $J = 5.5, 10.4$ Hz, 1H; CHH-OH), 3.24 (dt, $J = 13.7, 7.6$ Hz, 1H; 6'-Hb), 3.19 (ddd, $J = 10.4, 7.4, 5.5$ Hz, 1H; 3'-H), 2.86 (dd, $J = 10.4, 2.4$ Hz, 1H; OH), 2.32 (dddd, $J = 12.5, 7.6, 7.2, 4.9$, 1H; 5'-Ha), 1.78 (ddt, $J = 12.5, 8.9, 7.6$ Hz, 1H; 5'-Hb), 1.27 (s, 9H; *t*Bu), 0.92 (ddd, $J = 11.4, 6.7, 5.5$ Hz, 1 H; *c*-Pr), 0.77 (ddd, $J = 11.4, 7.2, 6.1$ Hz, 1H; *c*-Pr), 0.70-0.64 (m, 1 H; *c*-Pr), 0.48 (ddd, $J = 10.5, 7.2, 5.5$ Hz, 1H; *c*-Pr); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz)**: $\delta = 75.2$ (d; C-3a'), 75.0 (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 72.6 (d; C-4'), 62.7 (s; C-2'), 60.8 (t; CH_2OH), 54.7 (t; C-6'), 48.9 (d; C-3'), 34.0 (t; C-5'), 28.7 (q; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 9.2, 6.9 (t, 2C; *c*-Pr); **IR (KBr)**: $\nu = 3158, 2968, 2930, 1367, 1358, 1196, 1172, 1062, 1035, 1021, 805$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 241 (2.4) [M^+], 184 (4), 154 (9), 126 (11), 112 (17), 98 (9), 82 (12), 68 (23), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ (241.33): C 64.70, H 9.61, N 5.80; trovata: C 64.98, H 9.66, N 5.68.

(3'S, 3a'R, 4'S)-4'-*t*-Butossitetraidro-3'H-spiro[ciclopropano-1,2'-pirrolo[1,2'-*b*]isossazol-3'-il]metil acetato (191):

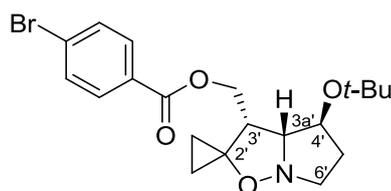


Ad una soluzione 0.2 M di **190** (470 mg, 1.95 mmol) in piridina (9.5 mL) viene aggiunta a 0 °C in atmosfera di azoto l'anidride acetica (3.4 mL, 38.5 mmol, 18.4 eq.) e DMAP in quantità catalitiche. La miscela viene lasciata reagire per una notte a T ambiente. Per il *quench* vengono aggiunti 5 mL di metanolo a 0 °C e la miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica per 30 minuti a temperatura ambiente. Dopo aver ridotto il volume della miscela, vengono aggiunti 10 mL di diclorometano e la fase organica viene lavata con 10 mL di una soluzione al 5% di bicarbonato di sodio. La fase acquosa viene estratta tre volte con diclorometano (3x15 mL) e le

fasi organiche riunite seccate su Na₂SO₄ quindi concentrate. Il prodotto ottenuto viene purificato tramite cromatografia su gel di silice con Et₂O/*n*-esano: 4/1 come eluente. Si sono così ottenuti 486 mg di prodotto pulito (olio incolore) per una resa dell'88 % rispetto a **191**.

191: $R_f = 0.30$ (Et₂O/*n*-esano: 4/1); $[\alpha]_D^{24} = -20.5$ ($c = 0.8$, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz)**: $\delta = 4.26$ - 4.21 (m, 1H; 4'-H), 4.23 (dd, $J = 11.3, 6.7$ Hz, 1H; $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{H}}$ -OAc) 4.06 (dd, $J = 11.3, 7.6$ Hz, 1H; $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{H}}$ -OAc), 3.77 (dd, $J = 8.0, 4.2$ Hz; 1H, 3a'-H), 3.32 (ddd, $J = 13.4, 9.0, 6.9$ Hz, 1H; 6'-Ha), 3.26 (ddd, $J = 13.4, 7.4, 4.5$ Hz, 1H; 6'-Hb), 3.13 - 3.07 (m, 1H; 3'-H), 2.18 (dddd, $J = 12.8, 9.0, 7.4, 6.4$ Hz, 1H; 5'-Ha), 2.05 (s, 3H; Ac), 1.73 (dddd, $J = 12.8, 6.9, 4.5, 3.8$ Hz, 1H; 5'-Hb), 1.20 (s, 9H; *t*Bu), 0.97 - 0.91 (m, 1H; *c*-Pr), 0.82 - 0.77 (m, 2H; *c*-Pr), 0.59 - 0.53 (m, 1H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (50 MHz)**: $\delta = 170.5$ (s; $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 76.2 (d; C-3a'), 73.9 (s; $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_3$), 72.2 (d; C-4'), 64.0 (s; C-2'), 62.7 (t; $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$ -OAc), 55.2 (t; C-6'), 45.7 (d; C-3'), 34.6 (t; C-5'), 28.6 (q; $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_3$), 20.8 (q; $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), $9.3, 6.8$ (t, 2C; *c*-Pr); **IR**: $\nu = 2979, 1738, 1366, 1243, 1235, 1217, 1214, 1210, 1036$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 283 (0.8) [M⁺], 226 (1), 210 (0.3), 198 (0.3), 166 (18), 156 (7), 112 (16), 110 (10), 82 (10), 68 (20), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per C₁₅H₂₅NO₄ (283.36): C 63.58, H 8.89, N 4.94; trovata: C 63.21, H 8.82, N 4.62.

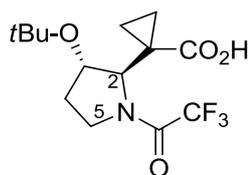
[(3'S,3a'R,4'S)-4'-*t*-butossitetraidro-3'*H*-spiro[ciclopropano-1,2'-pirrolo[1,2-*b*]isossazol]-3'-il]metil 4-bromobenzoato (193**):**



Ad una soluzione 0.2 M del cicloaddotto **190** (54 mg, 0.22 mmol) in DCM anidro (1 mL) viene aggiunto a 0 °C sotto N₂ acido *p*-bromobenzoico **192** (50.3 mg, 0.25 mmol), DIC (39 μ L, 31.5 mg, 0.25 mmol) e DMAP (2.7 mg, 0.022 mmol). La miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica in atmosfera di N₂ per 21h a temperatura ambiente. Il prodotto ottenuto per evaporazione del solvente viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: *n*-esano/Et₂O: 1/3). Sono stati ottenuti 81 mg di **193** (solido bianco, olio incolore) con una resa dell'85%.

193: $R_f = 0.22$ (*n*-esano/Et₂O: 1/3); $[\alpha]_D^{23} = -36.1$ ($c = 0.6$, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz):** $\delta = 7.85$ (d, $J = 2$ Hz; Ar), 7.59 (d, 2H; Ar), 4.63 (dd, $J = 6.4, 11.1$ Hz, 1H; CHH-OAr), 4.33-4.26 (m, 2H; 4-H, CHH-OAr), 3.85-3.80 (dd, $J = 4.7, 7.8$ Hz, 1H; 3a'-H), 3.42-3.26 (m, 3H; 3'-H, 6'-H), 2.30-2.19 (m, 1H; 5'-H_a), 1.79-1.71 (m, 1H; 5'-H_b), 1.19 (s, 9H; *t*Bu), 1.06-0.96 (m, 1H; *c*-Pr), 0.90-0.79 (m, 2H; *c*-Pr), 0.64-0.57 (m, 1H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (100 MHz):** $\delta = 165.4$ (s; CO), 131.8 (d, 2C; Ar), 131.0 (d, 2C; Ar), 128.5 (s; Ar), 128.3 (s; Ar), 74.1 (d; C-3a'), 72.5 (d; C-4'), 72.5 (s; OC(CH₃)₃), 64.2 (s; C-2'), 63.6 (t; CH₂-OAr), 55.3 (d; C-6'), 46.1 (d; C-3'), 34.8 (t; C-5'), 28.8 (q; C(CH₃)₃), 9.6, 7.1 (t; *c*-Pr); **IR:** $\nu = 2979, 1720, 1591, 1485, 1399, 1365$; **MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 424 (0.2) [M⁺], 183 (37), 168 (9), 166 (75), 123 (16), 110 (17), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per C₂₀H₂₆BrNO₄ (424.33): C 56.61, H 6.18, N 3.30; trovata: C 56.60, H 6.30, N 3.15.

Acido 1-[(2*S*,3*R*)-3-*t*-Butossi-1(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il] ciclopropancarbossilico (194):



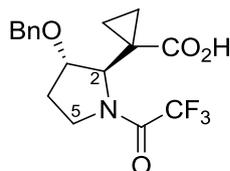
Ad una soluzione di **185** (570 mg, 2.4 mmol) in toluene (49.5 mL) a t.a. viene aggiunto l'acido trifluoroacetico (410 mg, 3.6 mmol, 1.5 equiv). La soluzione viene scaldata a 70 °C per 1 ora tramite irraggiamento di microonde (potenza 150 Watt, temperatura effettiva tra 55 e 65 °C, metodo *instant cooling*). Il solvente viene rimosso sotto vuoto e il grezzo di reazione purificato tramite cromatografia *flash* su gel di silice (eluente: diclorometano/metanolo: 20/1). Il prodotto **194** (567 mg, 73% resa) si presenta come un solido bianco.

194: $R_f = 0.27$; **p.f.** = 111-112 °C; $[\alpha]_D^{23} = +24.6$ ($c = 0.61$, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz):** $\delta = 4.46$ (dt, $J = 4.9, 6.1$, 1H; 3-H), 3.92-3.84 (m, 1H; 5-H_a), 3.80-3.71 (m, 1H; 5-H_b), 3.58 (d, $J = 4.7$, 1H; 2-H), 2.24 (dddd, $J = 12.8, 6.7, 6.1, 4.5$, 1H; 4-H_a) 1.85-1.76 (m, 1H; 4-H_b), 1.52 (ddd, $J = 9.8, 7.6, 4.7$ Hz, 1H; *c*-Pr), 1.42-1.36 (m, 1H; *c*-Pr), 1.32-1.24 (m, 1H; *c*-Pr), 1.21 (s, 9H; *t*Bu), 1.14 (ddd, $J = 9.3, 7.7, 4.2$ Hz, 1H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (100 MHz):** $\delta = 179.6$ (s; CO₂H), 156.0 (q, $J_{C-F} = 36.2$ Hz; COCF₃), 116.3 (q, $J_{C-F} = 287.8$ Hz; CF₃), 74.5 (s; C(CH₃)₃), 74.3 (d; C-3), 68.4 (d; C-2), 46.5 (tq, $J_{C-F} = 3.5$ Hz; C-5), 34.2 (t; C-4), 28.6 (q, 3C; CH₃), 23.7 (s; *c*-Pr), 17.7 (t; *c*-Pr), 15.1 (t; *c*-Pr); **IR (KBr):** $\nu = 3600-2800, 2985, 1720, 1687, 1447, 1397, 1203, 1141$,

1000, 758, 613; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 323 (0.3, M^+), 267 (9), 250 (6), 198 (23), 156 (14), 69 (14), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $C_{14}H_{20}F_3NO_4$ (323.31): C 52.01, H 6.24, N 4.33, trovata: C 52.18, H 6.09, N 4.43.

Acido 1-[(2*S*,3*R*)-3-(benzilossi)-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]ciclopropancarbossilico

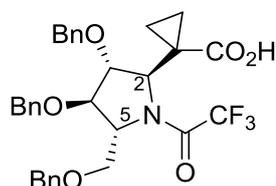
(195):



Ad una soluzione dell' isossazolidina **186** (50 mg, 0.18 mmol) in toluene (3.7 mL) a t.a. viene aggiunto l'acido trifluoroacetico (21.0 μ l, 0.28 mmol, 1.5 eq). La miscela di reazione viene scaldata a 70 °C per 1 ora tramite irraggiamento di microonde (potenza 150 W, temperatura effettiva tra 55 e 65 °C, metodo *while cooling*). Si ottiene come prodotto grezzo un olio marrone che viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: *n*-esano/ Et_2O : 1/1), ottenendo **195** come olio incolore (51 mg, 78% resa).

195: R_f = 0.32 (*n*-esano/ Et_2O : 1/1); $[\alpha]_D^{21}$ = +28.2 (c = 0.8, $CHCl_3$); **1H -NMR (400 MHz)**: δ = 7.38-7.27 (m, 5H; Ph), 4.65 (d, J = 12.0 Hz, 1H; OCH_2HPh), 4.59 (d, J = 12.0 Hz, 1H; OCH_2HPh), 4.35-4.32 (m, 1H; 2-H), 4.30-4.25 (dddd, J = 5.4, 8.2, 13.4, 21.6, 1H; 3-H), 3.99-3.85 (m, 1H; 5-Ha), 3.81-3.73 (m, 1H; 5-Hb), 2.35-2.23 (m, 1H; 4-Ha), 2.14-2.00 (m, 1H; 4-Hb), 1.52-1.43 (m, 1H; *c*-Pr), 1.35-1.24 (m, 1H; *c*-Pr), 1.18-1.10 (m, 1H; *c*-Pr), 1.00-0.91 (m, 1H; *c*-Pr); **^{13}C -NMR (50 MHz)**: δ = 179.4 (s; CO_2H), 156.5 (q, $J_{C,F}$ = 36.7 Hz, $NC(=O)CF_3$), 137.5 (s; Ph), 128.3 (d, 2C; Ph), 127.6 (d; Ph), 127.4 (d, 2C; Ph), 116.1 (q, $J_{C,F}$ = 287.2 Hz, CF_3), 80.8 (d, C-3), 70.9 (t; OCH_2Ph), 65.6 (d; C-2), 46.4 (tq, $J_{C,F}$ = 3.8 Hz; C-5), 31.0 (t; C-4), 23.9 (s; *c*-Pr), 15.9 (t; *c*-Pr), 14.7 (t; *c*-Pr); **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 323 (2), 293 (2), 237 (2), 182 (7), 170 (12), 152 (7), 81 (12), 57 (100), 32 (86); **IR**: ν = 3067, 2912, 1693, 1454, 1431, 1205, 1152; **analisi elementare** calcolata per $C_{17}H_{18}F_3NO_4$ (357.32): C 57.14, H 5.08, N 3.92; trovata: C 57.41; H 5.17; N 4.23.

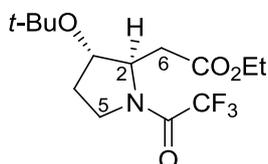
Acido 1-[(2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-Bis(benzilossi)-5-[(benzilossi)metil]-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]ciclopropancarbossilico (196):



Una soluzione 0.04 M di isossazolidina **187** (100 mg, 0.20 mmol) e TFA (23 μ L, 0.30 mmol) in toluene viene scaldata a 110 $^{\circ}$ C in bagno ad olio per 10 min. Dopo rimozione del solvente e purificazione del prodotto grezzo su gel di silice (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 3/1), la β -omoprolina pura **196** viene ottenuta come olio incolore (110 mg, resa 94%).

196: R_f = 0.24 (etere di petrolio/AcOEt: 3/1); $[\alpha]_D^{20}$ = -10.2 (c = 0.4, CHCl_3); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz):** δ = 7.34–7.21 (m, 15 H; Ph), 4.98 (br s, 1H; 2-H), 4.56–4.37 (m, 7H; OCH_2Ph , 5-H), 4.07 (br s, 1H; 4-H), 3.96 (br s, 1H; 3-H), 3.64 (t, J = 9.5 Hz, 1H; CHHOBn), 3.50 (dd, J = 9.3, 5.4 Hz, 1H; CHHOBn), 1.26 (m, 2H; i -Pr), 0.90–0.85 (m, 1H; i -Pr), 0.83–0.78 (m, 1H; i -Pr); **$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz):** δ = 179.4 (s; CO_2H), 157.2 (q, $J_{\text{C-F}}$ = 37.1 Hz; COCF_3), 137.4 (s; Ph), 137.1 (s; Ph), 136.8 (s; Ph), 128.5 (d, 2C; Ph), 128.4 (d, 3C; Ph), 128.3 (d, 2C; Ph), 128.0 (d; Ph), 127.8 (d; Ph), 127.7 (d, 3C; Ph), 127.6 (d, 3C; Ph), 116.1 (q, $J_{\text{C-F}}$ = 288.4 Hz; CF_3), 84.5 (d; C-4), 82.7 (d; C-3), 73.3, 71.6, 71.4 (t; OCH_2Ph), 69.2 (t; CH_2OBn), 65.5 (d; C-2), 63.8 (d; C-5), 25.5 (s; i -Pr), 18.7, 14.6 (t; i -Pr); **IR:** ν = 3033, 2928, 1621 (br), 1455, 1204, 1155, 1099; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 583 (0.04, M^+), 386 (51), 181 (13), 91 (100), 65 (13); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{NO}_6$ (583.59): C 65.86, H 5.53, N 2.40; trovata: C 65.76, H 5.83, N 2.32.

Etile 2-[(2*R*,3*S*)-3-*t*-butossi-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il] acetato (199):



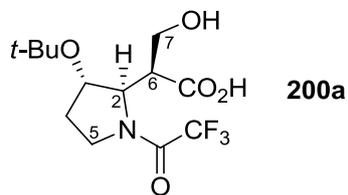
Ad una soluzione dell'isossazolidina **188** (50.4 mg, 0.178 mmol) in acetonitrile (5.9 mL, 0.03 M) viene aggiunto l'acido trifluoroacetico (21.0 μ L, 0.27 mmol, 1.5 eq). La miscela viene scaldata a 80

°C in bagno a olio per un'ora e mezzo. Per evaporazione del solvente sotto vuoto e purificazione tramite cromatografia su gel di silice del prodotto grezzo (eluente: diclorometano/metanolo: 20/1) vengono ottenuti 15 mg di prodotto **199** (olio marrone) con una resa del 26%.

199: $R_f = 0.22$ (AcOEt); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 4.15$ (q, $J = 7.1$ Hz, 2H; OCH_2CH_3), 3.88 (dd, $J = 12.6, 6.5$ Hz, 1H; 3-H), 3.39 (ddd, $J = 8.7, 6.5, 4.5$ Hz, 1H; 2-H), 3.33-3.26 (m, 1H; 5-Ha), 3.24-3.18 (m, 1H; 5-Hb), 2.74 (parte A di un sistema ABX, $J = 16.7, 4.5$ Hz, 1H; 6-Ha), 2.67 (parte B di un sistema ABX, $J = 16.7, 8.7$ Hz, 1H; 6-Hb), 2.19-2.10 (m, 1H; 4-Ha), 1.82-1.73 (m, 1H; 4-Hb), 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H; OCH_2CH_3), 1.18 (s, 9H; *t*Bu); **IR:** $\nu = 3685, 2978, 2934, 1728, 1681, 1392, 1367, 1192, 1145$.

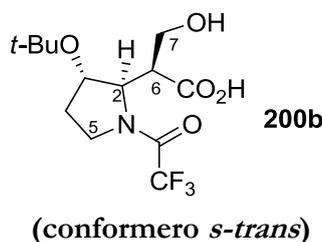
Acido (2*S*)-2-[(2*R*, 3*S*)-3-*t*-butossi-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]-3-idrossipropanoico
(**200a** e **200b**):

Ad una soluzione dell'isossazolidina **190** (30.9 mg, 0.128 mmol) in acetonitrile (4.3 mL, 0.03 M) viene aggiunto a temperatura ambiente acido trifluoroacetico (15.0 μL , 0.195 mmol, 1.5 eq). La miscela viene riscaldata a 80 °C in tubo chiuso in un reattore a microonde (potenza 150 W, rampa di temperatura 10 minuti, durata 5 minuti, metodo *while cooling*, temperatura stabilizzata tra i 67-73 °C). Per evaporazione del solvente sotto vuoto e purificazione tramite cromatografia su gel di silice del prodotto grezzo (eluente: diclorometano/metanolo: 15/1) vengono ottenuti due prodotti: 8 mg del prodotto di testa **200a** (olio marrone) (DCM/metanolo: 10/1 $R_f = 0.3$) per una resa del 19% e 15.8 mg del prodotto di coda **200b** (olio marrone) (DCM/metanolo: 10/1 $R_f = 0.12$) per una resa del 38%. (Resa totale 57%).



(conformero *s-cis*)

200a: $R_f = 0.30$ (DCM/metanolo: 10/1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.33\text{-}4.29$ (m, 2H; 2-H, 3-H), 3.87-3.70 (m, 3H; 7-Ha, 5-H), 3.65 (dd, $J = 11.0, 4.7$ Hz, 1H; 7-Hb), 2.78-2.73 (m, 1H; 6-H), 2.34-2.24 (m, 1H; 4-Ha), 1.98-1.90 (m, 1H; 4-Hb), 1.21 (s, 9H; $t\text{Bu}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CD_3OD): $\delta = 176.1$ (s; CO_2H), 158.3 (q, $J_{\text{C,F}} = 36.4$ Hz; NCOCF_3), 117.7 (q; $J_{\text{C,F}} = 285.0$ Hz, CF_3), 76.0 (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 73.1 (d; C-3), 67.5 (d; C-2), 62.2 (t; C-7), 49.0 (d; C-6), 46.2 (q, $J_{\text{C,F}} = 4.6$ Hz; C-5), 33.4 (t; C-4), 28.7 (q, 3C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); $^{19}\text{F NMR}$ (188 MHz, CD_3OD): $\delta = -76.9$; **IR:** $\nu = 3620, 3443, 2977, 1676, 1448, 1393, 1367, 1223, 1215, 1207, 1154, 1047$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 327 (0.2) [M^+], 271 (4), 253 (10), 236 (11), 218 (5), 202 (3), 182 (11), 178 (7), 166 (10), 140 (5), 126 (5), 96 (6), 69 (21), 57 (100).



200b: $R_f = 0.12$ (DCM/metanolo: 10/1); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.36\text{-}4.32$ (m, 1H; 3-H), 4.03 (dd, $J = 11.0, 4.4$ Hz, 1H; 7-Ha), 3.96 (dd, $J = 11.0, 6.2$ Hz, 1H; 7-Hb), 3.76-3.73 (m, 1H; 2-H), 3.44-3.33 (m, 2H; 5-H), 2.72-2.67 (m, 1H; 6-H), 2.34-2.20 (m, 1H; 4-Ha), 1.96-1.89 (m, 1H; 4-Hb), 1.22 (s, 9H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CD_3OD): $\delta = 177.6$ (s; CO_2H), 162.8 (q, $J_{\text{C,F}} = 37.0$ Hz; NCOCF_3), 118.1 (q, $J_{\text{C,F}} = 295.9$ Hz; CF_3), 76.1 (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 73.4 (d; C-3), 67.3 (d; C-2), 62.1 (t; C-7), 49.0 (d; C-6), 44.8 (t; C-5), 34.1 (t; C-4), 28.8 (s, 3C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); $^{19}\text{F NMR}$ (188 MHz, CD_3OD): $\delta = -77.0$; **IR** (CHCl_3): $\nu = 3688, 3151, 2980, 2927, 1675, 1601, 1425, 1220, 1218, 1216, 1208, 1202, 1194, 1140$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 307 (2), 260 (2), 201 (2), 174 (16), 149 (13), 142 (12), 126 (10), 112 (15), 100 (20), 86 (19), 82 (24), 69 (42), 57 (100).

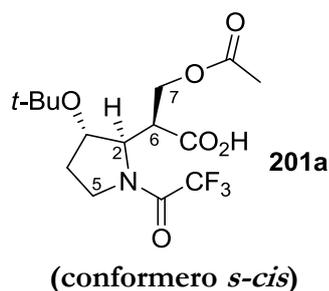
Isomerizzazione di 200a in 200b:

Una miscela circa 2:1 di **200a** e **200b** in CD_3OD viene scaldata a 60 °C per 2 ore. Lo spettro $^1\text{H NMR}$ della miscela finale ha mostrato la presenza del solo amminoacido **200b**.

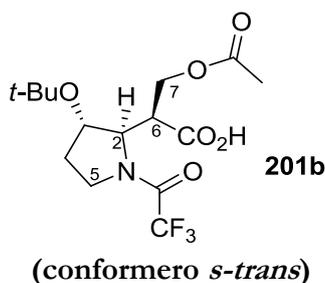
Acido (2*S*)-3-(acetilossi)-2-[(2*R*, 3*S*)-3-*t*-butossi-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]propanoico (201a e 201b):

All'isossazolidina **191** (79 mg, 0.279 mmol) sciolta in acetonitrile (9.2 mL, soluzione 0.03M) viene aggiunto acido trifluoroacetico (33.0 μ L, 0.428 mmol). La miscela viene riscaldata a 70 °C in tubo chiuso in un reattore a microonde (potenza 150 W, rampa di temperatura 10 minuti, durata 2 minuti, metodo *while cooling*, temperatura stabilizzata tra i 60-64 °C).

Per evaporazione del solvente e purificazione del grezzo di reazione tramite cromatografia su gel di silice (eluente: diclorometano/metanolo: 20/1) vengono ottenuti due prodotti: 64.6 mg del prodotto di testa **201a** (olio giallo) (R_f = 0.29) per una resa del 63% e 27.6 mg del prodotto di coda **201b** (olio giallo) (R_f = 0.14) per una resa del 27%. La resa globale della reazione è stata del 90%.



201a: R_f = 0.29 (diclorometano/metanolo: 20/1); $[\alpha]_D^{24}$ = -10.6 (c = 0.8, CHCl_3); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD):** δ = 4.37-4.31 (m, 3H; 7-Ha, 2-H, 3-H), 4.15 (dd, J = 11.2, 6.1 Hz, 1H; 7-Hb), 3.89-3.81 (m, 1H; 5-Ha), 3.78-3.69 (m, 1H; 5-Hb), 2.98-2.93 (m, 1H; 6-H), 2.35-2.26 (m, 1H; 4-Ha), 2.01 (s, 3H; OCOCH_3), 1.99-1.92 (m, 1H; 4-Hb), 1.21 (s, 9H; $t\text{Bu}$); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):** δ = 4.42 (dd, J = 11.3, 7.9 Hz, 1H; 7-Ha), 4.37-4.32 (m, 1H; 2-H), 4.24-4.21 (m, 1H; 3-H), 4.19 (dd, J = 11.3, 6.2 Hz, 1H; 7-Hb), 3.91-3.82 (m, 1H; 5-Ha), 3.67 (ddd, J = 10.5, 8.8, 4.6 Hz, 1H; 5-Hb), 3.24-3.19 (m, 1H; 6-H), 2.23-2.14 (m, 1H; 4-Ha), 2.05 (s, 3H; OCOCH_3), 1.96-1.87 (m, 1H; 4-Hb), 1.19 (s, 9H; $t\text{Bu}$); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz):** δ = 175.0 (s; CO_2H), 170.6 (s; OCOCH_3), 156.4 (q, $J_{\text{C,F}}$ = 37.0 Hz; NCOCF_3), 116.1 (q, $J_{\text{C,F}}$ = 287.5 Hz; CF_3), 74.9 (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 71.3 (d; C-3), 65.6 (d; C-2), 62.0 (t; C-7), 45.5 (q, $J_{\text{C,F}}$ = 3.7 Hz; C-5), 45.4 (t; C-6), 33.0 (t; C-4), 28.3 (q; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.7 (q; OCOCH_3); **$^{19}\text{F NMR}$ (188 MHz, CD_3OD):** δ = -73.7; **IR:** ν = 3492, 2977, 2935, 1741, 1714, 1689, 1449, 1392, 1366, 1243, 1154; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 314 (0.9), 295 (1), 254 (10), 235 (21), 218 (15), 203 (11), 184 (7), 175 (7), 161 (15), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{NO}_6$ (369.33): C 48.78, H 6.00, N 3.79; trovata: C 49.12, H 6.33, N 3.73.

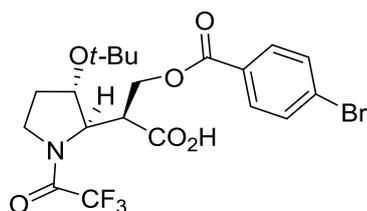


201b: $R_f = 0.14$ (diclorometano/metanolo: 20/1); $[\alpha]_D^{22} = +16.7$ ($c = 0.3$, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.38\text{-}4.32$ (m, 3H; 7-Ha, 2-H, 3-H), 4.13 (dd, $J = 11.1, 6.4$ Hz, 1H; 7-Hb), 3.87-3.80 (m, 1H; 5-Ha), 3.73 (dt, $J = 2.6, 9.9$ Hz, 1H; 5-Hb), 2.87-2.81 (dt, $J = 6.8, 7.7$ Hz, 1H; 6-H), 2.38-2.29 (m, 1H; 4-Ha), 2.00 (s, 3H; OCOCH_3), 2.01-1.91 (m, 1H; 4-Hb), 1.21 (s, 9H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.42$ (dd, $J = 11.3, 8.0$ Hz, 1H; 7-Ha), 4.35-4.31 (m, 1H; 2-H), 4.25-4.21 (m, 1H; 3-H), 4.20 (dd, $J = 11.4, 6.0$ Hz, 1H; 7-Hb), 3.90-3.82 (m, 1H; 5-Ha), 3.75-3.64 (m, 1H; 5-Hb), 3.29-3.24 (m, 1H; 6-H), 2.24-2.13 (m, 1H; 4-Ha), 2.05 (s, 3H; OCOCH_3), 1.95-1.88 (m, 1H; 4-Hb), 1.19 (s, 9H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CD_3OD) (assegnati solo i segnali inferiori a 100 ppm): $\delta = 75.9$ (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 73.1 (d; C-3), 67.8 (d; C-2), 65.0 (t; C-7), 49.0 (d; C-6), 46.2 (t; C-5), 33.5 (t; C-4), 28.8 (q; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.7 (q; OCOCH_3); $^{19}\text{F NMR}$ (188 MHz, CD_3OD): $\delta = -77.1$; IR (CHCl_3): $\nu = 3681, 2985, 2929, 1736, 1718, 1686, 1241, 1230, 1149$; MS (70 eV, EI): m/z (%) = 235 (5), 218 (2), 166 (11), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{NO}_6$ (369.33): C 48.78, H 6.00, N 3.79; trovata: C 49.16, H 6.38, N 3.86.

Riscaldamento di 201a e 201b a 60 °C:

I prodotti **201a** e **201b** sono stati scaldati separatamente in CD_3OD a 60 °C per 2 giorni. L'analisi NMR delle soluzioni finali non ha mostrato variazioni significative negli spettri dei due composti.

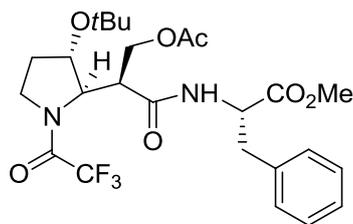
Acido (2S)-3-[(4-bromobenzoil)ossi]-2-[(2R,3S)-3-*t*-butossi-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]propanoico (202):



Alla soluzione del cicloaddotto **193** (148 mg, 0.35 mmol) in CH_3CN (12 mL) viene aggiunto a 0 °C TFA (40 μL , 0.52 mmol). Dopo aver lasciato la soluzione sotto agitazione magnetica per 30 minuti riscaldo a 70 °C per 5 minuti tramite irraggiamento con MW (potenza 250 W, rampa di temperatura 10 minuti, metodo *while cooling*). Dopo aver concentrato a pressione ridotta la soluzione, il grezzo di reazione ottenuto viene purificato tramite colonna cromatografica (eluente: DCM/MeOH: 60/1) ottenendo il prodotto **202** (117 mg, 65% resa) come olio incolore.

202: $R_f = 0.22$ (DCM/MeOH: 50/1); $[\alpha]_D^{22}$ circa 0, non indicativo ($c = 0.6$, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.83$ (d, $J = 8.5$, 2H; Ph), 7.54 (d, $J = 8.5$, 2H; Ph), 4.64 (dd, $J = 7.7, 11.2$ Hz, 1H; 7-Ha), 4.45-4.37 (m, 2H; 4-H, 7-Hb), 4.29-4.24 (m, 1H; 3-H), 3.86 (m, 1H; 5-Ha), 3.70-3.62 (m, 1H; 5-Ha), 3.42-3.34 (m, 1H; 6-H), 2.23-2.13 (m, 1H; 4-Ha), 1.95-1.85 (m, 1H; 4-Hb), 1.16 (s, 9H; *t*Bu); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz): $\delta = 176.4$ (s; CO_2H), 165.4 (s; CO-Ar), 156.6 (q, $J_{\text{C,F}} = 37.0$ Hz, NCOCF_3), 131.8 (d, 2C; Ph), 131.1 (d, 2C; Ph), 128.4 (s; Ph), 128.3 (s; Ph), 116.1 (q, $J_{\text{C,F}} = 287.3$ Hz, CF_3), 74.9 (s; $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 71.6 (d; C-3), 65.6 (d; C-2), 62.7 (t; C-7), 45.7 (t; C-5), 45.6 (d; C-6), 33.1 (t; C-4), 28.4 (q; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); $^{19}\text{F-NMR}$ (188 MHz, CDCl_3): $\delta = -72.2$; **IR**: $\nu = 2978, 1690, 1591, 1449, 1399, 1365, 1270, 1153$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 455 (0.4) $[\text{M}^+]$, 436 (0.5), 253 (6), 235 (50), 185 (46), 156 (9), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{BrNO}_6$ (510.30): C 47.07, H 4.54, N 2.74; trovata: C 47.33, H 4.71, N 3.03.

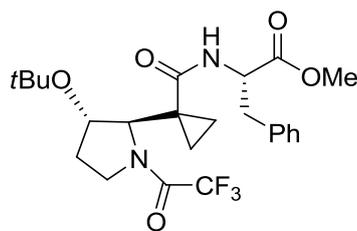
(S)-Metil 2-{(S)-3-acetossi-2-[(2R,3S)-3-*t*-butossi-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]propanammido}-3-fenilpropanoato (208):



Ad una soluzione di **201** (miscela di 2 prodotti **201a** e **201b** in rapporto 1:1.3) (86 mg, 0.23 mmol) e dell'estere metilico della L-fenilalanina cloridrato **206** (56 mg, 0.26 mmol) in DCM anidro (2.3 mL) vengono aggiunti a 0 °C, in atmosfera di N₂, DIPEA (118 μ L, 0.69 mmol) e PyBroP (121 mg, 0.26 mmol). La miscela di reazione viene lasciata per 15 ore sotto agitazione magnetica in atmosfera di N₂. Il solvente viene rimosso a pressione ridotta, viene aggiunto AcOEt e la fase organica lavata 3 volte con 5% KHSO₄, con 5% NaHCO₃ e infine con brine. La fase organica viene seccata su Na₂SO₄ e concentrata. Il prodotto grezzo viene purificato tramite cromatografia su gel di silice (eluente: *n*-esano/Et₂O: 1/1). Il dipeptide puro **208** (56 mg) è stato ottenuto come olio incolore con una resa del 46%.

208: $R_f = 0.29$ (*n*-esano/Et₂O: 1/1); $[\alpha]_D^{22} = -289$ ($c = 1.1$, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz)**: $\delta = 7.31$ -7.22 (m, 3H; Ph), 7.12-7.10 (m, 2H; Ph), 6.29-6.21 (brm, 1H; NH), 4.82 (dt, $J = 5.7, 7.7$ Hz, 1H; NH-CH), 4.42-4.38 (m, 1H; 2-H), 4.31 (dd, $J = 11.1, 8.6$ Hz, 1H; 7-Ha), 4.18 (dd, $J = 11.1, 5.7$ Hz, 1H; 7-Hb), 4.24-4.21 (m, 1H; 3-H), 3.91-3.82 (m, 1H; 5-Ha), 3.70 (s, 3H; OCH₃), 3.67 (ddd, $J = 10.5, 8.8, 4.6$ Hz, 1H; 5-Hb), 3.17 (dt, $J = 8.6, 5.7$ Hz, 1H; 6-H), 3.10 (dd, $J = 14.1, 5.6$ Hz, 1H; CHH-Ph), 3.00 (dd, $J = 14.1, 7.5$ Hz, 1H; CHH-Ph), 1.99 (s, 3H; OCOCH₃), 1.98-1.90 (m, 1H; 4-Ha), 1.77-1.69 (m, 1H; 4-Hb), 1.16 (s, 9H; *t*Bu); **¹³C-NMR (100 MHz)**: $\delta = 171.1$ (s; CONH), 170.1 (s; COCH₃), 156.8 ($J_{C,F} = 36.3$ Hz; NCOCF₃), 128.8 (d; Ph), 128.8 (d; Ph), 127.2 (d; Ph), 116.1 (q, $J_{C,F} = 287.4$ Hz; CF₃), 74.8 (s; OC(CH₃)₃), 71.6 (d; C-3), 66.2 (d; C-2), 62.9 (t; C-7), 53.3 (d; NH-CH-CO₂Me), 46.4 (q; CO₂CH₃), 45.6 (d; C-6), 45.6 (q, $J_{C,F} = 3.5$ Hz; C-5), 33.3 (t; C-4), 28.4 (q; C(CH₃)₃), 20.7 (q; OCOCH₃); **¹⁹F-NMR (188 MHz, CDCl₃)**: $\delta = -71.7, -72.0$; **IR**: $\nu = 2977, 1742, 1687, 1510, 1445, 1366, 1241, 1205, 1154, 1040$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 530 (1) [M⁺], 473 (1), 397 (2), 296 (4), 254 (4), 236 (11), 162 (46), 91 (15), 57 (100), 43 (58); **analisi elementare** calcolata per C₂₅H₃₃F₃N₂O₇ (530.53): C 56.6, H 6.27, N 5.28; trovata: C 56.58, H 6.25, N 5.08.

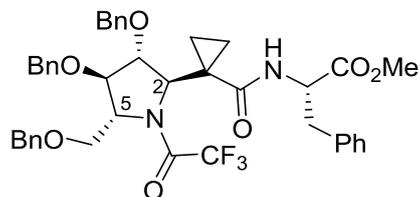
(S)-Metil 2-({1-[(2R,3S)-3-*t*-butossi-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]ciclopropil}carbossi)ammido)-3-fenilpropanoato (207):



Ad una soluzione di **194** (80.4 mg, 0.25 mmol) in diclorometano anidro (2.4 mL) vengono aggiunti in condizioni anidre, a 0 °C, nell'ordine l'estere metilico della L-fenilalanina cloridrato **206** (58.2 mg, 0.27 mmol), DIPEA (96.9 mg, 129.2 mmol) e PyBrop (126.1 mg, 0.27 mmol). La soluzione viene lasciata a 0 °C per 30 minuti e poi a temperatura ambiente per una notte. Il solido ottenuto dopo evaporazione del solvente a pressione ridotta viene sciolto in AcOEt e la soluzione ottenuta viene lavata prima con 5% di KHSO₄, poi con 5% di NaHCO₃ e infine con brine. La fase organica viene seccata su Na₂SO₄ anidro, i sali filtrati su cotone ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il prodotto grezzo viene purificato tramite cromatografia *flash*, su gel di silice (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 5/1). Il prodotto **207** puro (93 mg, 77% resa), si presenta come un olio incolore.

207: $R_f = 0.27$ (etere di petrolio/AcOEt: 5/1); $[\alpha]_D^{23} = +24.8$ ($c = 0.63$, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz)**: $\delta = 7.31-7.18$ (m, 3H; Ph), 7.11-7.05 (m, 2H; Ph), 6.21 (brd, $J = 7.3$, NH), 4.74 (dt, $J = 7.5, 6.5$ Hz, 1H; 3-H), 4.50-4.44 (m, 1H; $\underline{\text{CHBn}}$), 3.82-3.72 (m, 1H; 5-Ha), 3.68 (s, 3H; OCH₃), 3.64-3.51 (m, 2H; 2-H, 5-Hb), 3.10 (parte X di un sistema AX₂, $J = 13.9; 6.0$ Hz, 1H; $\underline{\text{CHHPh}}$); 3.03 (parte Y di un sistema AX₂, $J = 13.9; 6.7$ Hz, 1H; $\underline{\text{CHHPh}}$); 2.13-2.05 (m, 1H; 4-Ha), 1.78-1.70 (m, 1H; 4-Hb), 1.20-1.00 (m, 2H; *c*-Pr), 1.16 (s, 9H; *t*Bu), 0.90-0.78 (m, 2H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (50 MHz)**: $\delta = 171.8, 171.5$ (s; $\underline{\text{CO}}_2\text{Me}, \text{CONH}$), 156.2 (q, $J_{\text{C-F}} = 36.2$ Hz; $\underline{\text{COCF}}_3$), 135.6 (s; Ph), 128.8 (d, 2C; Ph), 128.4 (d, 2C; Ph), 127.0 (d; Ph), 116.2 (q, $J_{\text{C-F}} = 287.2$ Hz; CF₃), 74.6 (s; $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 74.1 (d; C-3), 70.5 (d; C-2), 53.2 (d; $\underline{\text{CHBn}}$), 52.3 (q; OCH₃), 46.4 (tq, $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz; C-5), 37.7 (t; $\underline{\text{CH}}_2\text{Bn}$), 34.0 (t; C-4), 28.5 (q, 3C; $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 26.7 (s; *c*-Pr), 13.7 (t; *c*-Pr), 11.4 (t; *c*-Pr); **IR**: $\nu = 3437, 3030, 2977, 1741, 1688, 1509, 1444, 1365, 1252, 1205, 1152$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 484 (0.6, M⁺), 411 (2), 306 (2), 266 (3), 250 (22), 180 (14), 162 (28), 91 (15), 57 (100); **analisi elementare** calcolata per C₂₄H₃₁F₃N₂O₅ (484.51): C 59.49, H 6.45, N 5.78; trovata: C 59.62, H 6.74, N 5.62.

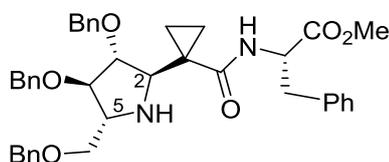
(S)-Metil 2-[(1-[(2R,3R,4R,5R)-3,4-bis(benzilossi)-5-(benzilossi)metil-1-(trifluoroacetil)pirrolidin-2-il]ciclopropil}carbossi)ammido]-3-fenilpropanoato (209):



Ad una soluzione di β -omoprolina **196** (368 mg, 0.63 mmol) in CH_2Cl_2 anidro (6 mL) vengono aggiunti a 0 °C L-fenilalaninametilestere idrocloruro (150 mg, 0.69 mmol), PyBroP (323 mg, 0.69 mmol) e DIPEA (324 μL , 1.89 mmol). La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente per una notte, il solvente viene rimosso a pressione ridotta. Il solido ottenuto viene sciolto in AcOEt e la soluzione viene lavata due volte con 5% KHSO_4 , con 5% NaHCO_3 e infine con brine. Le fasi organiche riunite vengono seccate su Na_2SO_4 e concentrate per ottenere il prodotto grezzo che viene purificato mediante cromatografia su gel di silice (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 2/1). Il dipeptide puro **209** (369 mg) viene ottenuto con una resa del 79% come olio incolore.

209: $R_f = 0.62$; $[\alpha]_D^{20} = +39.2$ ($c = 1.3$, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): $\delta = 7.35\text{--}7.18$ (m, 20 H; Ph), 7.12 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H; NH), 4.79 (q, $J = 7.4$ Hz, 1H; CHBn), 4.52–4.32 (m, 7H; OCH_2Ph , 5-H), 4.14 (br s, 1H; 2-H), 4.11 (br s, 1H; 3-H), 4.00 (br s, 1H; 4-H), 3.64 (s, 3H; OMe), 3.54 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H; CHHOBn), 3.45 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H; CHHOBn), 3.07 (dd, $J = 13.6, 5.8$ Hz, 1H; CHCHHPh), 2.88 (dd, $J = 13.7, 7.6$ Hz, 1H; CHCHHPh), 1.37 (m, 1H; ι -Pr), 1.05 (m, 1H; ι -Pr), 0.76 (m, 1H; ι -Pr), 0.63 (m, 1H; ι -Pr); $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz): $\delta = 171.9, 171.7$ (s; CO_2Me , CONH), 158.0 (q, $J_{\text{C-F}} = 36.6$ Hz; COCF_3), 137.2 (s; Ph), 136.9 (s; Ph), 136.5 (s; Ph), 136.4 (s; Ph), 129.2 (d, 3C; Ph), 128.5 (d, 2C; Ph), 128.4 (d, 3C; Ph), 128.33 (d, 3C; Ph), 128.27 (d, 2C; Ph), 128.0 (d; Ph), 127.8 (d, 3C; Ph), 127.6 (d, 2C; Ph), 126.7 (d; Ph), 117.2 (q, $J_{\text{C-F}} = 288.4$ Hz; CF_3), 86.1 (d; C-3), 81.3 (d; C-4), 73.2, 71.8, 71.2 (t; OCH_2Ph), 69.0 (d; C-2), 68.2 (t; CH_2OBn), 64.0 (d; C-5), 53.7 (d; CHBn), 52.0 (q; OMe), 37.8 (t; CHCHHPh), 27.0 (s; ι -Pr), 15.6, 13.9 (t; ι -Pr); **IR:** $\nu = 3691, 3332, 3032, 2954, 1734, 1678, 1661, 1521$ (br), 1455, 1248, 1205, 1157; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 745 (1, M^+), 515 (4), 181 (11), 162 (3), 121 (3), 91 (100); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_7$ (744.80): C 67.73, H 5.82, N 3.76; trovata: C 67.53, H 5.94, N 4.05.

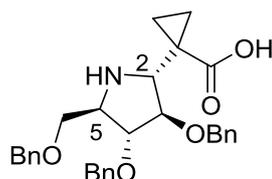
(S)-Methyl 2-[[1-[(2R,3R,4R,5R)-3,4-bis(benzilossi)-5-(benzilossimetil)pirrolidinil]ciclopropil]carbossi]ammido]-3-fenilpropanoato (210):



Ad una soluzione del dipeptide **209** (338 mg, 0.45 mmol) in metanolo (9 mL) viene aggiunto a 0 °C NaBH₄ (34 mg, 0.91 mmol). Alla miscela di reazione viene permesso di ritornare a temperatura ambiente e poi viene lasciata sotto agitazione magnetica per 5 h. La soluzione viene concentrata a piccolo volume e dopo aver aggiunto acqua viene estratta con AcOEt. Le fasi organiche riunite vengono seccate su Na₂SO₄ e concentrate ed il prodotto grezzo viene purificato per cromatografia su gel di silice. (eluente: etere di petrolio/AcOEt: 2/1) per ottenere il dipeptide **210** puro (177 mg, 60 % resa) come olio incolore.

210: $R_f = 0.36$; $[\alpha]_D^{20} = -7.0$ ($c = 0.3$, CHCl₃); **¹H-NMR (400 MHz):** $\delta = 7.29-7.06$ (m, 20 H; Ph), 7.05 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H; NH), 4.74 (q, $J = 6.0$ Hz, 1H; CHBn), 4.49-4.40 (m, 6H; OCH₂Ph), 4.38-4.27 (m, 2H; CH₂OBn), 3.86 (dd, $J = 7.8, 4.5$ Hz, 1H; 3-H), 3.59 (s, 3H; OMe), 3.59-3.58 (m, 1H; 4-H), 2.97 (dd, $J = 13.9, 5.9$ Hz, 1H; CHCH₂HPh), 2.88 (dd, $J = 13.9, 7.5$ Hz, 1H; CHCH₂HPh), 2.88-2.83 (m, 1H; 5-H), 2.56 (br d, $J = 5.5$ Hz, 1H; 2-H), 1.71 (br s, 1H; NH), 1.33-1.28 (m, 1H; *c*-Pr), 0.87-0.79 (m, 2H; *c*-Pr), 0.65 (m, 1H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (50 MHz):** $\delta = 172.7, 172.5$ (s; CO₂Me, CONH), 137.8, 137.7, 137.3, 136.6 (s; Ph), 129.2 (d, 2C; Ph), 128.9 (d; Ph), 128.60 (d; Ph), 128.56 (d; Ph), 128.44 (d, 2C; Ph), 128.38 (d, 2C; Ph), 128.3 (d, 3C; Ph), 128.2 (d; Ph), 128.1 (d; Ph), 127.8 (d, 2C; Ph), 127.7 (d, 3C; Ph), 126.7 (d, 2C; Ph), 86.0 (d; C-3), 84.6 (d; C-4), 73.1, 72.5, 71.9 (t; OCH₂Ph), 69.5 (t; CH₂OBn), 65.5 (d; C-2), 59.7 (d; C-5), 53.6 (d; CHBn), 52.0 (q; OMe), 38.0 (t; CHCH₂Ph), 23.1 (s; *c*-Pr), 14.5, 10.1 (t; *c*-Pr); **IR:** $\nu = 3688, 3318, 2867, 1742, 1654, 1530, 1455, 1179, 1095$; **MS** (70 eV, EI): m/z (%) = 649 (1, M⁺), 557 (15), 527 (32), 419 (7), 329 (17), 149 (10), 91 (100); **analisi elementare** calcolata per C₄₀H₄₄N₂O₆ (648.79): C 74.05, H 6.84, N 4.32; trovata: C 74.51, H 6.84, N 4.32.

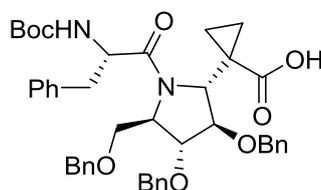
Acido 1-[(2R,3R,4R,5R)-3,4-bis(benzilossi)-5-[(benzilossi)metil]pirrolidin-2-il]ciclopropancarbossilico (196):



Ad una soluzione di **196** (383 mg, 0.66 mmol) in MeOH (6.5 mL) e H₂O (2 mL), viene aggiunto a temperatura ambiente K₂CO₃ (1315 mg, 17.11 mmol). La soluzione viene scaldata a 60 °C per un giorno, al termine della reazione viene aggiunta g.a.g. una soluzione satura acq. di KHSO₄. L'H₂O viene rimossa tramite liofilizzazione e il grezzo di reazione viene purificato tramite cromatografia su gel di silice a fase inversa (C₈) usando come eluente prima H₂O poi miscela H₂O/MeOH a polarità decrescente fino a diclorometano. Vengono raccolti 306 mg di **212** (solido bianco) con resa del 95%.

212: ¹H-NMR (400 MHz): δ = 7.39–7.21 (m, 15 H; Ph), 4.60–4.29 (m, 7H; OCH₂Ph, 5-H), 4-16 (br s, 1H; 4-H), 3.91 (br s, 1H; 3-H), 3.69-3.48 e 3.46-3.23 (m, 3H; CH₂OBN, NH), 2.75 (d, J =7.6, 1H, 2-H) 1.55-1.40 (m, 1H, *c*-Pr), 1.15-0.99 (m, 1H, *c*-Pr), 0.96-0.81 (m, 1H, *c*-Pr), 0.73-0.57 (m, 1H, *c*-Pr); ¹³C-NMR (50 MHz, CD₃OD): δ = 177.3 (s, CO₂H); 137.4 (s, 2C; Ph), 137.3 (s; Ph), 128.3, 128.2, 127.8, 127.7, 127.6 (d, 15C; Ph), 86.0 (d; C-4), 83.4 (d; C-3), 73.3 (t; OCH₂Ph), 73.0 (t, 2C; OCH₂Ph), 68.0 (t; CH₂OBN), 65.3 (d; C-2), 59.4 (d; C-5), 21.6 (s; *c*-Pr), 15.4 (t; *c*-Pr), 10.6 (t; *c*-Pr).

Acido 1-{(2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzilossi)-5-[(benzilossi)metil]-1-{(2*S*)-2-[(*t*-butossicarbossi)ammido]-3-fenilpropanoil}pirrolidininil-2-il}ciclopropancarbossilico (215):



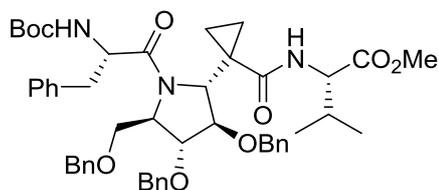
Una soluzione di CDMT (102 mg, 0.58 mmol) e NMM (0.067 mL, 0.58 mmol) in CH₂Cl₂ anidro (0.1 mL) viene lasciata sotto agitazione magnetica a -10 °C per 30 min. Boc-L-fenilalanina (154 mg, 0.58 mmol) viene aggiunta a 0 °C, la miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione per 1 h e poi una soluzione di **212** (236 mg, 0.48 mmol) e NMM (107 μ L, 0.98 mmol) in CH₂Cl₂ anidro (0.2 mL) viene aggiunta a 0 °C. La miscela di reazione viene riscaldata a 60 °C in un

reattore per microonde (potenza 50 W), raffreddata a t.a. e poi diluita con CH_2Cl_2 . La soluzione viene lavata con una soluzione acquosa al 10% di KHSO_4 e con brine, seccata su Na_2SO_4 , filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il grezzo di reazione viene purificato tramite cromatografia *flash* su gel di silice (eluente: toluene/ Et_2O : 2/1) per ottenere **215** (248 mg, 70% resa) come olio incolore.

L'analisi degli spettri NMR mostra la presenza di 2 conformeri.

215: $R_f=0.22$; $[\alpha]_D^{21} = -21.5$ ($c=0.65$, EtOH); **$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)**: $\delta=7.41-6.90$ (m, 20H; Ph), 5.45 (d, $J=8.9$ Hz) and 5.36 (brd, $J=8.2$ Hz, 1H, NH-Boc), 4.95-4.86 and 4.80-4.70 (m, 2H; CHCH_2Ph , 2-H), 4.66-4.28 (m, 6 H; OCH_2Ph), 4.27-3.58 (m, 4H; 3-H, 4-H, 5-H, CHHOBn), 3.05-2.84 (m, 3H; CHCH_2Ph , CHHOBn), 1.50-0.75 (m, 4H; $i\text{-Pr}$), 1.39 and 1.38 (s, 9H; $t\text{Bu}$); **$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, conformero maggioritario)**: $\delta=178.5$ (s; $\text{C=O}_2\text{H}$), 172.4 (s; N-C=O), 154.5 (s; NCO_2tBu), 138.2 (s; Ph), 137.8 (s; Ph), 137.3 (s; Ph), 135.5 (s; Ph), 129.4-126.8 (d, 20C; Ph), 87.1 (d; C-3), 82.9 (d; C-4), 79.6 (s; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 72.9 (t; OCH_2Ph), 71.04 (t; OCH_2Ph), 70.98 (t; OCH_2Ph), 66.6 (t; CH_2OBn), 64.3 (d; C-5), 62.4 (d; C-2), 53.8 (d; NCHCH_2Ph), 40.9 (t; NCHCH_2Ph), 29.6 (s; $i\text{-Pr}$), 28.3 (q, 3C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 15.6 (t; $i\text{-Pr}$), 14.7 (t; $i\text{-Pr}$); **MS** (ESI): m/z (%) = 735 (MH^+); **IR**: $\nu=3432, 3032, 2928, 1706, 1641, 1497, 1455, 1368, 1166, 1098$; **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_8$ (734.88): C 71.91, H 6.86, N 3.81; trovata: C 71.66, H 7.12, N 4.07.

(S)-Metil 2-([1-((2R,3R,4R,5R)-3,4-bis(benzilossi)-5-[(benzilossi)metil]-1-((S)-2-[(terz-butossicarbonil)ammino]-3-fenilpropanoil}pirrolidin-2-il)ciclopropil]carbossi}ammido)-3-metilbutanoato (216):



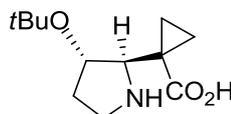
NMM (0.042 mL, 0.38 mmol) viene aggiunto a 0 °C ad una soluzione di **215** (70 mg, 0.09 mmol) e L-valina metil estere idrocloruro (32 mg, 0.19 mmol) in CH_2Cl_2 anidro (0.5 mL). Dopo 30 min, HOBt (26 mg, 0.19 mmol) e EDCI (36 mg, 0.19 mmol) vengono aggiunti a 0 °C e la miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica a t.a. per 5 h. La miscela di reazione viene in sequenza concentrata a pressione ridotta, diluita con AcOEt , lavata con una soluzione satura di

NaHCO₃ e con brine, seccata su Na₂SO₄ filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il grezzo di reazione viene purificato per cromatografia *flash* su gel di silice (eluente: toluene/Et₂O: 5/1) per ottenere **216** (38 mg, 47% resa) come olio incolore.

L'analisi degli spettri NMR mostra la presenza di 2 conformeri.

216: $R_f = 0.29$; $[\alpha]_D^{23} = -137.1$ ($c = 0.49$, EtOH); **¹H-NMR (400 MHz):** $\delta = 8.46$ -8.32 e 7.83-7.74 (m, 1H; NH_{val}), 7.38-7.04 (m, 20H; Ph), 5.45 (brd, $J = 9.6$ Hz, 1H; NH_{Boc}) e 5.22-5.16 (m, 1H, NH_{Boc}), 4.97-4.86 (m, 1H; CHCH₂Ph), 4.62-4.25 (m, 8 H; 3-H, NHCHCHMe₂, OCH₂Ph x3), 4.23-3.93 (m, 3H; 2-H, 4-H, 5-H), 3.80-3.60 (m, 1H; CHHOBn), 3.77 e 3.62 (br s, 3H; OMe), 3.09-2.73 (m, 3H; CHCH₂Ph, CHHOBn), 2.31-2.14 (m, 1H; CHMe₂), 1.44-0.62 (m, 4H; *c*-Pr), 1.40 e 1.37 (br s, 9H; *t*Bu), 0.99 (brd, $J = 6.8$ Hz) e 0.97 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H; CH(CH₃)₂); **¹³C-NMR (50 MHz, conformero maggioritario):** $\delta = 173.8$ (s; CO), 172.7 (s; CO), 172.4 (s; CO), 154.8 (s; NCO₂*t*Bu), 138.2 (s, 2C; Ph), 137.2 (s; Ph), 135.1 (s; Ph), 129.4-126.8 (d, 20C; Ph), 87.4 (d; C-3), 83.3 (d; C-4), 79.8 (s; *t*Bu), 72.8 (t; OCH₂Ph), 70.9 (t, 2C; OCH₂Ph), 66.5 (t; CH₂OBN), 64.2, 64.5 (d; C-2, C-5), 58.1(d; NCHCHMe₂), 53.5 (d; NCHCH₂Ph), 51.8 (q; OCH₃), 41.6 (t; NCHCH₂Ph), 30.6 (s; *c*-Pr), 30.0 (d; CHMe₂), 28.2 (q, 3C; *t*Bu), 19.1 (q; CHCH₃), 18.2 (q; CHCH₃), 14.1 (t; *c*-Pr), 9.9 (t; *c*-Pr); **MS** (ESI): m/z (%) = 848 (MH⁺), 870 [(M+Na)⁺], 886 [(M+K)⁺]; **IR:** $\nu = 3673, 3433, 3307, 3032, 2969, 2932, 1740, 1699, 1641, 1498, 1367, 1167, 1098$; **analisi elementare** calcolata per C₅₀H₆₁N₃O₉ (848.03): C 70.81, H 7.25, N 4.96; trovata: C 71.21, H 7.08, N 4.68.

Acido 1-[(2*R*,3*S*)-3-*t*-butossipirrolidin-2-il]ciclopropancarbossilico (**221**):



Ad una soluzione di **194** (308 mg, 0.95 mmol) in MeOH (9.5 mL) e H₂O (3.2 mL), viene aggiunto a temperatura ambiente K₂CO₃ (1907 mg, 13.77 mmol). La soluzione viene scaldata a 60 °C per un giorno, al termine della reazione viene aggiunta g.a.g. una soluzione satura acq. di KHSO₄. Dato che non è stato possibile estrarre il prodotto dall'acqua con i comuni solventi organici per la sua forte affinità con tale solvente, è stata rimossa l'H₂O tramite liofilizzazione e successivamente il grezzo di reazione viene purificato tramite cromatografia su gel di silice a

fase inversa (C₈) usando come eluente prima H₂O poi miscele H₂O/MeOH a polarità decrescente fino a diclorometano. Vengono raccolti 207 mg di **221** (solido bianco) con resa del 90%.

221: ¹H-NMR (400 MHz): δ = 4.35-4.26 (m, 1H, 3-H), 3.47-3.37 (m, 1H, 5-Ha), 3.35-3.16 (m, 1H, 5-Hb), 2.58 (d, J = 6.6, 1H, 2-H), 2.34-2.24 (m, 1H, 4-Ha), 1.83-1.73 (m, 1H, 4-Hb), 1.33-1.23 (m, 1H, *c*-Pr), 1.15 (s, 9H, *t*Bu), 1.02-0.94 (m, 1H, *c*-Pr), 0.87-0.80 (m, 1H, *c*-Pr), 0.74-0.64 (m, 1H, *c*-Pr); **¹³C-NMR (50 MHz, CD₃OD):** δ = 179.5 (s, CO₂H), 75.6 (d, C-3), 74.4 (s, C(CH₃)₃), 71.4 (d, C-2), 44.0 (t, C-5), 34.4 (t, C-4), 28.9 (q, 3C, C(CH₃)₃), 22.6 (s, *c*-Pr), 14.6 (t, *c*-Pr), 12.6 (t, *c*-Pr); **IR:** ν = 3600, 3300, 2978, 1680, 1591, 1410, 1366, 1205, 1187; **MS** (70 eV, ED): m/z (%)= 227 (M⁺, 1), 170 (76), 152 (22), 126 (16), 108 (14), 82 (44), 69 (46), 57 (100).

7 SINTESI DI β -LATTAMI SOSTITUITI CON
ANELLI CICLOPROPANICI SPIROFUSI E
LORO APPLICAZIONI COME *BUILDING*
BLOCKS PER PROCESSI DI
POLIMERIZZAZIONE

7.1 SINTESI DI 3-SPIROCICLOPROPAN-2-AZETIDINONI

Gli antibiotici β -lattamici sono quelli più frequentemente usati come agenti microbici (sostanze in grado di inibire o fermare la crescita di batteri o funghi). Il primo esempio osservato è stato scoperto da Sir A. Fleming nel 1929.¹⁸³ Egli intuì che la crescita di alcuni batteri veniva significativamente arrestata da un fungo appartenente alla famiglia *Penicillium*, e lo chiamò Penicillina **227** (Fig. 18).

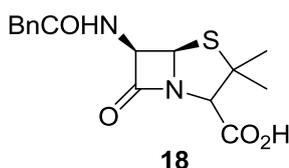


Fig. 18: Penicillina G

Gli antibiotici β -lattamici impediscono la sintesi della parete cellulare di un batterio inibendo la transpeptidasi, un'enzima presente solo nei batteri e non negli organismi eucarioti. A causa del loro ampio spettro antibatterico, la loro efficacia clinica, ed il loro eccellente profilo di sicurezza, gli antibiotici β -lattamici hanno rappresentato e rappresentano a tutt'oggi una delle maggiori aree della *drug discovery*. Recentemente è stato scoperto che questo tipo di antibiotici sono attivi contro importanti patologie che vanno dall'AIDS, al carcinoma alla prostata e alla mammella, e ad alcune malattie cardiovascolari e a vari fenomeni infiammatori dell'apparato respiratorio.¹⁸⁴ Per questo motivo circa il 50% degli antibiotici commercialmente disponibili sono a struttura β -lattamica.¹⁸⁵ Gli antibiotici β -lattamici attualmente disponibili possono essere divisi in 9 classi: Penicilline **228**, Cefalosporine **229**, Penemi **230**, Acido Clavulanico **231**, *trans*-Carbapenemi **232**, *cis*-Carbapenemi **233**, en-Carbapenemi **234**, Nocardicine **235** e Monobattami **236** (Fig. 19).

¹⁸³ Fleming, A. *Br. J. Exp. Pathol.* **1929**, *10*, 226.

¹⁸⁴ Per *reviews* selezionate sull'attività biologica dei β -lattami, vedi: (a) Hubbard, B. K.; Walsh, C. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 730. (b) Setti, E. L.; Mochetic, R. C. *Curr. Med. Chem.* **1998**, *5*, 101. (c) *The Organic Chemistry of β -Lactams*, (G. I. Georg Ed.), VCH, New York, **1993**. Per riferimenti selezionati sull'inibizione dei β -lattami e sulla loro resistenza batterica, vedi: (d) Buynak, J. D. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1951. (e) Niccolai, D.; Tarsi, L.; Thomas, R. J. *Chem. Commun.* **1997**, 2333.

¹⁸⁵ Von Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.; Weigand, S.; Hbich, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5072.

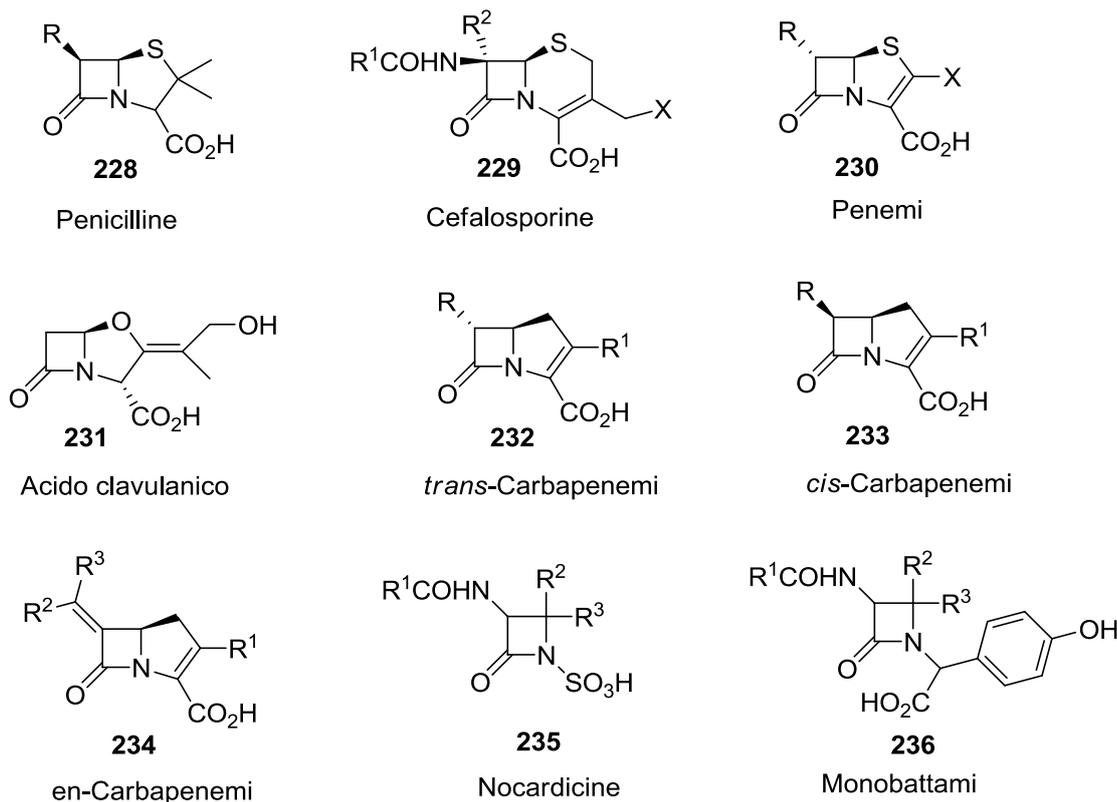


Fig. 19: Strutture delle più importanti classi di antibiotici β -lattamici.

Tutti gli antibiotici β -lattamici presentano un comune elemento strutturale, l'anello eterociclico β -lattamico, che rappresenta il farmacoforo verso i substrati biologici.¹⁸⁶

L'attività antibatterica deriva dall'inibizione di enzimi chiamati “*Penicillin Binding Proteins*” (PBPs) preposti alla biosintesi e al consolidamento della parete cellulare batterica. Questi enzimi appartengono alla classe delle transpeptidasi ed interagiscono con l'anello β -lattamico mediante la rottura del legame ammidico (frammentazione N1-C2). L'inibizione dei PBPs comporta un indebolimento della parete cellulare batterica che porta alla morte del microorganismo per lisi osmotica. I composti β -lattamici sono quindi ottimi candidati per la cura delle infezioni batteriche, anche perché in genere possiedono una bassa tossicità verso le cellule umane. La reattività nei confronti di PBPs è fortemente influenzata dalla presenza di sostituenti sul β -lattame

¹⁸⁶ (a) Morin, R. B.; Gorman, M. *Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics*, Academic Press, New York **1982**. (b) Boyd, D. B. *Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics*, Academic Press, New York **1982**, 1. (c) Morin, R. B.; Gorman, M. *Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics*, Academic Press, New York **1982**, 2. (d) Morin, R. B.; Gorman, M. *Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics*, Academic Press, New York **1982**, 3.

o dalla presenza di anelli fusi.¹⁸⁷ Quest'ultima può incrementare la tensione di anello e così, favorire l'interazione con le transpeptidasi, la cui attività elimina questa tensione addizionale.^{186,188} Date le proprietà steriche ed elettroniche dell'anello ciclopropanico, questo è in grado di influenzare notevolmente la libertà conformazionale delle molecole in cui è inserito e quindi la loro attività biologica.¹⁸⁷ Per questa ragione l'unità spirociclopropanica è spesso introdotta nello scheletro di antibiotici β -lattamici. Gli anelli spirociclopropanici sono stati introdotti su anelli a 5 termini in derivati penicillinici **237**,¹⁸⁹ in carbapenemi **238**¹⁹⁰ e in azapenemi **239**¹⁹¹ (Fig. 20).

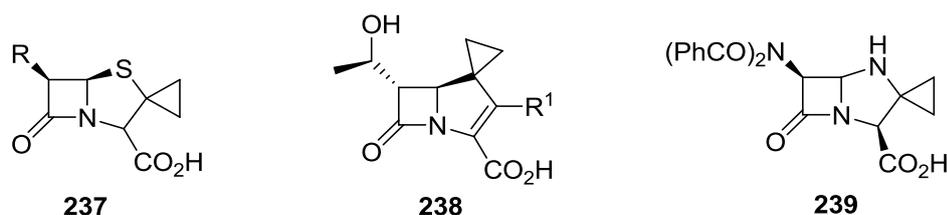


Fig. 20: Antibiotici β -lattamici contenenti un anello ciclopropanico spirofuso.

Purtroppo, i batteri sono in grado di sviluppare nel tempo nuove difese contro questi farmaci, ad esempio sviluppando β -lattamasi ossia enzimi in grado di idrolizzare il legame ammidico dell'anello β -lattamico prima che questo possa esplicare l'azione contro i PBPs. Per questo motivo è necessario creare antibatterici di nuova generazione ossia nuovi derivati β -lattamici che distruggano i batteri senza essere riconosciuti dalle β -lattamasi. Sono note, inoltre, alcune molecole contenenti l'anello β -lattamico, come l'acido clavulanico, caratterizzate da una scarsa attività antibatterica, ma capaci di inibire irreversibilmente le β -lattamasi. Questi possono, quindi, essere somministrati insieme ad antibiotici più potenti per sopprimere la resistenza batterica.

L'attività biologica dei β -lattami è direttamente connessa alla tensione di anello del ciclo a 4 termini e, in particolare, alla reattività del gruppo carbonilico nei confronti di un attacco nucleofilo.¹⁹²

¹⁸⁷ (a) Liu, H.-W.; Walsh, C. T. *The Chemistry of the cyclopropyl group* (Ed. Z. Rappoport), Wiley **1987**, 959. (b) J. Salaün, *Top. Curr. Chem.* **2000**, 207, 1.

¹⁸⁸ (a) Boyd, D. B. *Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics*, Academic Press, New York **1982**, 1, pp. 567. (b) Cohen, N. C. *Actual. Chim.* **1983**, 7. (c) Takasuka, M.; Nishikawa, J.; Tori K. *J. Antibiot.* **1982**, 35, 1729. (d) Boyd, D. B. *J. Med.Chem.* **1983**, 26, 1010.

¹⁸⁹ (a) Osborne, N. F. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1982**, 1435. (b) Shih, D. H.; Fayter, J. A.; Christensen, B. G. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 1639.

¹⁹⁰ Kim, C. U.; Misco, P. F.; Luh, B. Y. *Heterocycles* **1987**, 26, 1193.

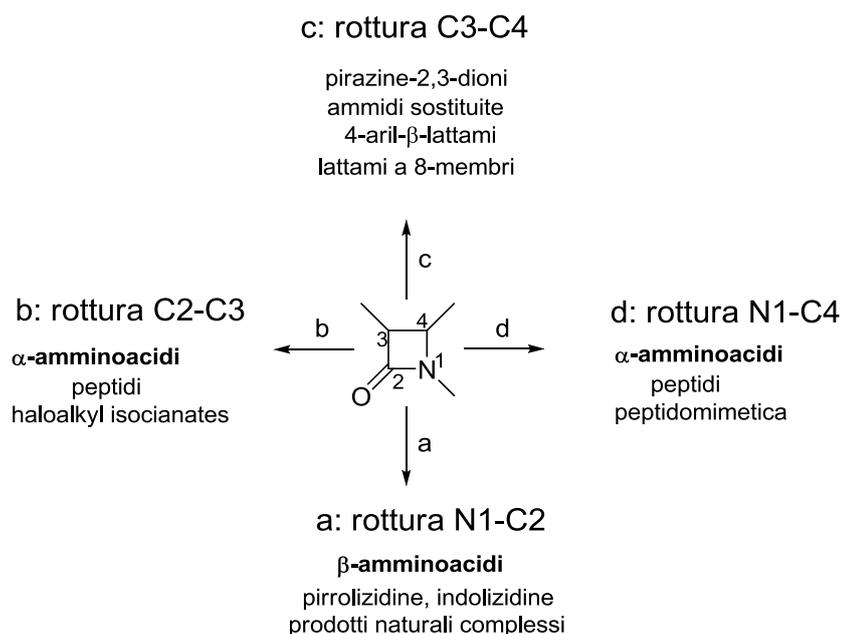
¹⁹¹ Es-Sayed, M.; Heiner, T.; de Meijere, A. *Synthesis* **1993**, 57.

¹⁹² Page, M. I.; Laws, A. P. *Tetrahedron* **2000**, 56, 5631 e riferimenti qui citati.

Per la loro elevata reattività, molecole a struttura β -lattamica rappresentano utili sintoni in chimica organica per l'ottenimento di α - e β -amminoacidi, peptidi, amminozuccheri ed alcaloidi.^{193,145b}

Ogni singolo legame del ciclo a 4 può essere selettivamente scisso^{193d} rendendo il nucleo 2-azetidionico utile in molte applicazioni¹⁹⁴ cosicchè per lo sviluppo di metodologie basate sull'elaborazione del nucleo β -lattamico ci si riferisce al " *β -lactam synthon method*".^{193f}

I diversi metodi di apertura dello scheletro β -lattamico sono riassunti nello **Schema 64**.

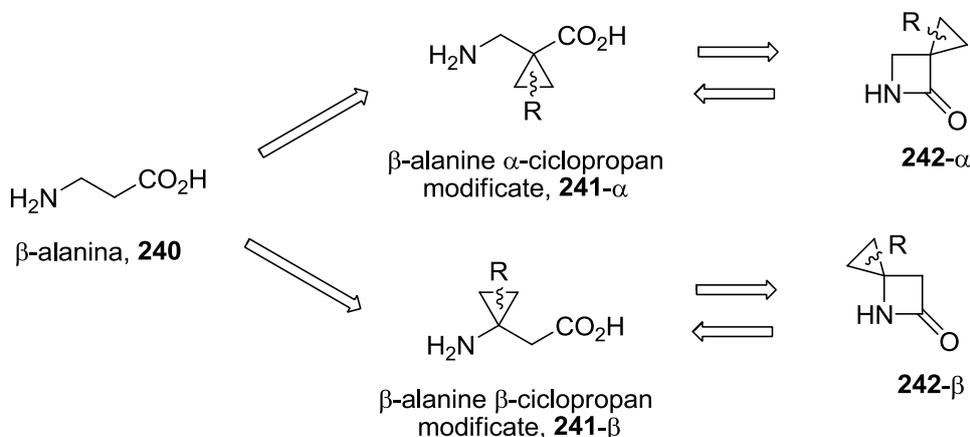


Schema 64: Diversi metodi di apertura dell'anello β -lattamico.

¹⁹³ (a) Palomo, C.; Aizpurua, J. M.; Ganboa, I.; Oiarbide, M. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1837. (b) Deshmukh, A. R. A. S.; Bhawal, B. M.; Krishnaswamy, D.; Govande, V. V.; Shinkre, B. A.; Jayanthi, A. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1889. (c) Alcaide, B.; Almendros, P. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1921. (d) Alcaide, B.; Almendros, P. *Synlett* **2002**, *3*, 381. (e) Palomo, C.; Aizpurua, J. M.; Ganboa, I.; Oiarbide, M. *Synlett* **2000**, *12*, 1813. (f) Ojima, I.; Delalogue, F. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 377. (g) Ojima, I. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 383. (h) Alcaide, B.; Almendros P.; Aragoncillo, C. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4437.

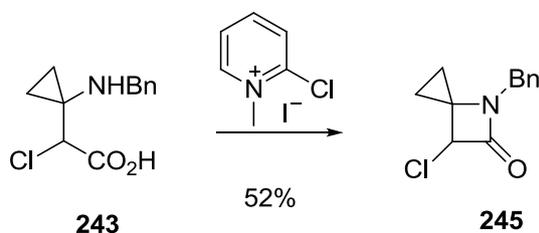
¹⁹⁴ (a) Ojima, I.; Suga, S.; Abe, R. *Chem. Lett.* **1980**, 853. (b) Ojima, I.; Qiu, X. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6537. (c) Ojima, I.; Zhao, M.; Yamato, T.; Nakahashi, K.; Yamashita, M.; Abe, R. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5263. (d) Alcaide, B.; Almendros, P.; Aragoncillo, C.; Salgado, N. R. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9596. (e) Alcaide, B.; Salgado, N. R.; Sierra, M. A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 467. (f) Alcaide, B.; Martín-Cantalejo, Y.; Rodríguez-López, J.; Sierra, M. A. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4767. (g) Alcaide, B.; Almendros, P.; Salgado, N. R.; Rodríguez-Vicente, A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4453. (h) Cossío, F. P.; Lopez, C.; Oiarbide, M.; Palomo, C.; Aparicio, D.; Rubiales, G. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3133. (i) Palomo, C.; Oiarbide, M.; Landa, A.; Esnal, A.; Linden, A. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4180.

Data la facile interconversione tra β -amminoacidi e β -lattami, β -alanine sostituite con un anello ciclopropanico **241**¹⁹⁵ possono essere immaginate come precursori per la sintesi di β -lattami monociclici spirociclopropanati **242** (Schema 65).



Schema 65: Interconversione di β -alanine α - e β -ciclopropilmodificate **241** con 3- e 4-spirociclopropan β -lattami **242- α** o $-\beta$ rispettivamente.

La sintesi di spirociclopropan β -lattami **244**, descritta da de Meijere e collaboratori,¹⁹⁶ prevede la ciclizzazione di derivati **243** della β -alanina (Schema 66).



Schema 66: Sintesi di 4-spirociclopropan-2-azetidioni **244**.

β -Lattami possono essere considerati come forme di β -amminoacidi in cui il gruppo amminico e quello carbossilico sono contemporaneamente protetti e un'applicazione del " *β -lactam synthon*

¹⁹⁵ Gnad, F.; Reiser, O. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1603.

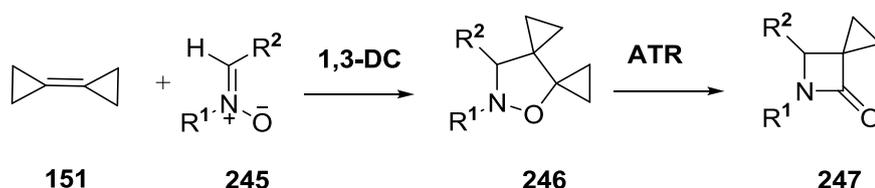
¹⁹⁶ De Meijere, A.; Teichmann, S.; Yu, D.; Kopf, J.; Oly, M.; von Thienen, N. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 2957.

*method*¹⁹⁷ è la sintesi di β -amminoacidi tramite apertura dell'anello azetidionico con rottura del legame N1-C2.¹⁹⁷

β -Amminoacidi sono presenti anche in natura, ad esempio come componenti di peptidi biologicamente attivi,¹⁹⁸ e la loro incorporazione all'interno di questi ha portato spesso vantaggi in termini di attività biologica e stabilità metabolica.^{30,199}

In questo lavoro l'interesse è stato rivolto soprattutto verso la sintesi di β -lattami non condensati con altri cicli, ma sostituiti con anelli ciclopropanici spirofusi **247**.

La procedura sintetica utilizzata nel nostro gruppo di ricerca per strutture azetidioniche **247** vede come intermedi sintetici le isossazolidine **246**, ottenibili a loro volta tramite reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare tra nitroni aciclici **245** ed il biciclopropilidene (BCP, **151**) (Schema **67**).^{132a, 141, 144,145}



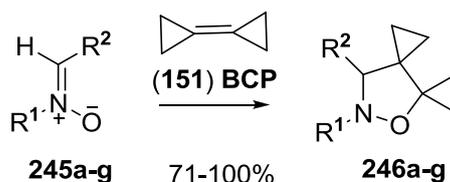
Schema 67: Formazione di isossazolidine **246** e loro trasposizione a strutture 2-azetidioniche **247**.

Le cicloaddizioni 1,3-dipolari tra nitroni **245a-g** e BCP **151** hanno portato alla sintesi dei corrispondenti cicloaddotti **246a-g** con buone rese, in certi casi anche quantitative (**Tab. 6**)^{146a}

¹⁹⁷ Per *reviews* sulla sintesi di β -amminoacidi, vedi: (a) Juaristi, E.; Lopez-Ruiz, H. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 983. (b) Liu, M.; Sibi, M. P. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 7991. (c) Abele, S.; Seebach, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1 e riferimenti qui citati.

¹⁹⁸ (a) Waisvitz, J. M.; van der Hoeven, M. G.; Nijenhuis, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4524. (b) Chu, K. S.; Negrete, G. R.; Konopelski, J. P. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5196.

¹⁹⁹ (a) Stachowiak, M. C.; Khosla, K.; Plucinska, F.; Bumpus, M. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 1128. (b) Jamazaki, T.; Probstl, A.; Schiller, P.; Goodman, M. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, *37*, 364. (c) Huang, Z.; Probstl, A.; Spencer, J. R.; Yamazaki, T.; Goodman, M. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1993**, *42*, 352. (d) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. A.; Powell, D. R.; Huang, X.; Barchi, J. J.; Gellman, S. H. *Nature* **1997**, *387*, 381. (e) Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173. (f) Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. *Nature* **2000**, *404*, 565. (g) Abele, S.; Guichard, G.; Seebach, D. *Helv. Chem. Acta* **1998**, *81*, 2141. (h) Gademann, K.; Ernst, M.; Hoyer, D.; Seebach, D. *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1302; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 1223. (i) Gung, B. W.; Zou, D.; Stalcup, A. M.; Cottrell, C. E. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2176. (l) Hamuro, Y.; Schneider, J. P.; DeGrado, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12200.

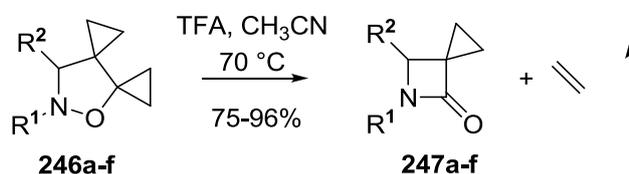


	Nitrone	R ¹	R ²	Temp. (°C)	Tempo (giorni)	Cicloaddotto	Resa (%)
1	245a	Bn	CO ₂ Me	45	2	246a	100
2	245b	Bn	Ph	60	25	246b	95
3	245c	Bn	CN	20	8	246c	94
4	245d	PMB	CN	20	8	246d	100
5	245e	Me	2-PY	60	36	246e	71
6	245f	Bn	<i>o</i> -IC ₆ H ₄	60	6	246f	88
7	245g	PMB	<i>o</i> -IC ₆ H ₄	65	4	246g	75

Tab. 6: Condizioni di reazione e rese per le cicloaddizioni 1,3-dipolari tra biciclopropilidene **151** e nitroni **245a-g**

Le reazioni sono state condotte in solventi apolari come benzene o toluene o in assenza di solventi, a temperatura ambiente o al massimo scaldando fino a 60-65 °C. Sono state evitate temperature più alte perchè in queste condizioni potrebbe diventare competitiva la trasposizione termica dei cicloaddotti ottenuti a dare tetraidropiridoni. Dato che le reazioni devono essere condotte a temperature moderate sono richiesti tempi di reazioni estremamente lunghi affinché queste vadano a completamento.

Il trattamento dei cicloaddotti ottenuti **246a-f** in ambiente acido ad una temperatura di 70 °C ha portato alla formazione dei corrispondenti β -lattami **247a-f** con buone rese (75-96%) dopo purificazione con metodi cromatografici (**Tab. 7**).



	Cicloaddotto	R ¹	R ²	Tempo [ore]	β -lattami	Resa (%)
1	246a	Bn	CO ₂ Me	12	247a	78

2	246b	Bn	Ph	3	247b	75
3	246c	Bn	CN	12	247c	75
4	246d	PMB	CN	12	247d	94
5	246e	Me	2-PY	0.7	247e	96
6	246f	Bn	<i>o</i> -IC ₆ H ₄	1	247f	89

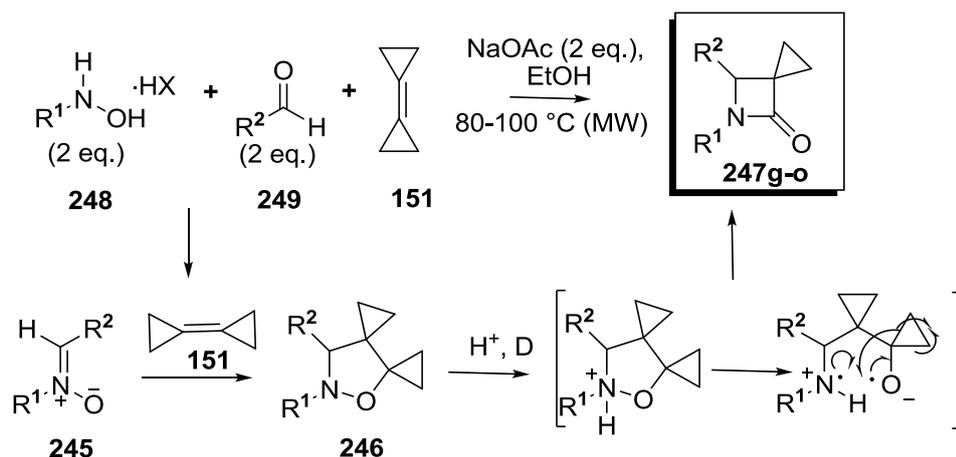
Tab. 7: Condizioni di reazione e rese per il riarrangiamento dei cicloaddotti **246**.

Per il processo di trasposizione termica in condizioni acide sono necessari acidi forti (HCl, TFA, pTsOH), tempi di reazione che vanno dai 3 minuti alle 12 ore ad una temperatura di 70 °C. Le rese con cui sono stati ottenuti i prodotti sono buone (75-96%), in particolare nei casi in cui il gruppo amminico è protetto con Me o PMB (**Tab. 7** reazioni **4** e **6**).

Problemi d'isolamento di alcuni nitroni dovuti ad una loro decomposizione e i tempi di reazione molto lunghi ci hanno spinto a provare ad effettuare le reazioni di cicloaddizione tra dipolarofili e nitroni creati *in situ* tramite condensazione di idrossilammine ed aldeidi. I primi test effettuati a temperatura ambiente hanno portato alla formazione di miscele di isossazolidine **246** e β -lattami **247** con basse rese. Riscaldando alla temperatura di 50 °C o lavorando in alte pressioni è stato ottenuto come unico prodotto il β -lattame **247**, ma le rese sono basse ed i tempi di reazione lunghi.

In seguito a questi risultati è stato fatto un tentativo di uso delle microonde come metodo di riscaldamento per ridurre i tempi di reazione. L'energia fornita con l'uso della tecnologia delle MW è più efficiente e viene fornita in modo più omogeneo e veloce. E' stato osservato come l'uso delle MW riduce i tempi di reazione (da giorni ad un massimo di 2 ore) e si evitano, quindi, tutti i problemi derivanti dalla decomposizione dei nitroni e aumenti notevolmente le rese (da 20-30% a 50-80%).

I migliori risultati ottenuti con uno studio metodologico sono risultati l'uso di 2 equiv. di sali di idrossilammina **248** (più stabili rispetto alle corrispondenti forme libere), 2 equiv. di aldeide **249** e di sodio acetato rispetto al BCP **151**. Affinchè l'intero processo avvenga il NaOAc, che fornisce un sistema tamponato, è risultato fondamentale. In assenza di questo, infatti, non avviene la condensazione tra l'idrossilammina **248** e l'aldeide **249** per dare il nitrone (**Tab. 8**).^{146b}



Idossilammina	HX	R ¹	R ²	Tempo (min.)	Temp (°C)	β -lattame	Resa (%)
248a	HCl	Bn	H	60	100	247g	68
248b	(CO ₂ H) ₂	PMB	H	60	80	247h	58
248c	HCl	BnH	H	30	100	247i	49
248d	HCl	<i>t</i> Bu	H	30	80	247l	73
248e	HCl	Bn	CO ₂ Et	15	80	247m	72
248f	HCl	<i>t</i> Bu	CO ₂ Et	105	80	247n	53
248g	HCl	PMB	CO ₂ Me	120	80	247o	78

Tab. 8: Reazione *one-pot* a 3 componenti con riscaldamento mediante irraggiamento di microonde per la diretta conversione di alchilidrossilammine cloridrate **248**, aldeidi **249** e biciclopropilidene **151** per ottenere 2-azetidioni aventi in 3 un anello ciclopropanico spirofuso **247**.

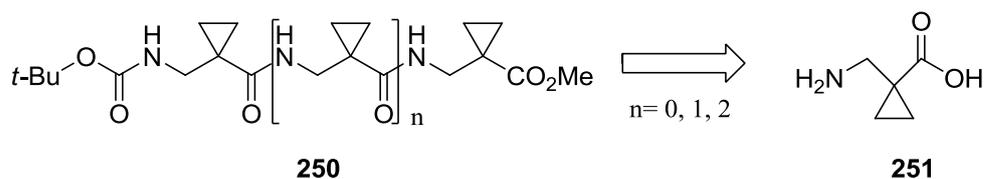
7.2 SINTESI DI POLI(β -PEPTIDI)

Uno sviluppo dei β -lattami ottenuti **247** ha riguardato la loro applicazione per la sintesi di β -peptidi attraverso processi di polimerizzazione.

Mentre il meccanismo di formazione ed i parametri che determinano la stabilità delle strutture secondarie delle proteine (eliche, *sheet*, *turn*) non sono ancora totalmente comprese, i β -peptidi assumono una struttura secondaria ben definita, predicibile anche da calcoli computazionali, nei casi in cui i loro *backbones* non siano conformazionalmente costretti per la presenza di residui ciclici.²⁰⁰

E' stato dimostrato, inoltre, che β -amminoacidi promuovono la formazione di stabili strutture secondarie come β -*turns*, β -*sheets* ed eliche.^{20e}

Seebach ha ottenuto piccoli β -peptidi **250** tramite accoppiamento di unità di acido 1-(amminometil)ciclopropano carbossilico **251** in cui l'anello risulta già aperto prima del processo di polimerizzazione (Schema 68).²⁰¹



Schema 68: Piccoli β -peptidi sintetizzati da Seebach e coll.

Strutture poli(β -peptidiche) possono essere preparate attraverso condensazione di piccoli peptidi,^{200, 202} polimerizzazione di anidridi di β -amminoacidi,²⁰³ copolimerizzazione di monossido

²⁰⁰ (a) Chen, F.; Lepore, G.; Goodmann, M. *Macromolecules* **1974**, *7*, 779. (b) Siesler, H. W. *Polymer* **1974**, *15*, 146. (c) Turner, S. R.; Schulz, R. C. *Makromol. Chem.* **1975**, *176*, 501. (d) Kricheldorf, H. R.; Schilling, G. *Makromol. Chem.* **1978**, *179*, 2667. (e) Yuki, H.; Okamoto, Y.; Taketani, Y.; Tsubota, T.; Marubayashi, Y. *J. Polym. Chem. Ed.* **1978**, *16*, 2237. (f) Masamoto, J.; Sasaguri, K.; Ohizumi, C.; Kobayashi, H. *J. Polym. Sci., Part A-2* **1978**, *8*, 1703. (g) Günster, E. J.; Schulz, R. C. *Makromol. Chem.* **1980**, *181*, 643.

²⁰¹ Abele, S.; Seiler, P.; D. Seebach, *Helv. Chem. Acta* **1999**, *82*, 1559.

²⁰² (a) Kovacs, J.; Ballina, R.; Rodin, R.; Balasubramanian, D.; Applequist, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 119. (b) Hardy, P. M.; Haylock, J.; Rydon, H. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1972**, 605.

²⁰³ (a) Fernández-Santin, J. M.; Aymami, J.; Rodríguez-Galán, A.; Muñoz-Guerra, S.; Subirana, J. A. *Nature* **1984**, *311*, 53. (b) Fernández-Santin, J. M.; Muñoz-Guerra, S.; Rodríguez-Galán, A.; Aymami, J.; Lloveras, J.; Subirana, J. A.; Giralt, E.; Ptak, M. *Macromolecules* **1987**, *20*, 62. (c) Cheng, J.; Ziller, J. W.; Deming, T. J. *Org. Lett.* **1999**, *2*, 1943. (d) Cheng, J.; Deming, T. J. *Macromolecules* **2001**, *34*, 5169. (e) Birkofer, L.; Modic, R. *Liebigs Ann. Chem.* **1957**, *604*, 56. (f) Birkofer, L.; Modic, R. *Liebigs Ann. Chem.* **1959**, *628*, 162. (g) Zilkha, A.; Burstein, Y. *Biopolymers* **1964**, *2*, 147. (h) Kricheldorf, H. *α -Aminoacid-N-carboxyanhydrides and Related Heterocycles*; Springer-Verlag: Berlin, New York, **1987**.

di carbonio e aziridine,²⁰⁴ e con polimerizzazione di β -lattami.²⁰⁵ Quest'ultimo metodo si è dimostrato il più utile per ottenere polimeri ad alto peso molecolare. Tra i composti eterociclici polimerizzabili, i lattami rappresentano il gruppo più versatile. Lattami polimerizzabili possono avere anelli a 4 termini o maggiori, possono essere sostituiti su entrambi gli atomi di C, sull'azoto ammidico o possono contenere altri anelli. La differente grandezza del ciclo, e il tipo di sostituzione presente su questo, influisce notevolmente sia sulla reattività dei lattami di partenza che sulle proprietà dei polimeri ottenuti: polimeri ottenuti da lattami a 4 termini hanno caratteristiche simili a quelle dei polipeptidi, mentre polimeri ottenuti da lattami ad anelli maggiori presentano caratteristiche simili a quelle del polietilene.

Tre differenti tipi di polimerizzazione sono presenti in letteratura: cationica, radicalica e anionica,²⁰⁶ quest'ultimo metodo è quello che si è dimostrato di maggior successo per la polimerizzazione di β -lattami.^{205,207}

La polimerizzazione anionica con apertura dell'anello consiste in un processo di accrescimento della catena nel quale sono implicate due specie attivate: anione lattamato **254**, una particella ad elevata nucleofilia, ed un'unità lattamica *N*-acilata **255**, un centro ad elevata abilità acilante, che agisce da attivante (**Schema 69 e 70**).

I lattamati **254**, ottenuti per deprotonazione ad opera di basi forti, iniziano la polimerizzazione anionica reagendo con l'attivante **255**. Il processo procede, poi, attraverso l'attacco nucleofilo del nuovo lattamato formato **256** su un'altra specie lattamica protonata **252** o **253**. Il processo continua nello stesso modo fino a quando l'aggiunta della benzilammina termina la reazione. Ai derivati 2-azetidionici aventi in 3 un anello ciclopropanico spirofuso **252** e **253** è stato applicato il protocollo di polimerizzazione anionica, seguendo il lavoro di Hashimoto e collaboratori.²⁰⁸

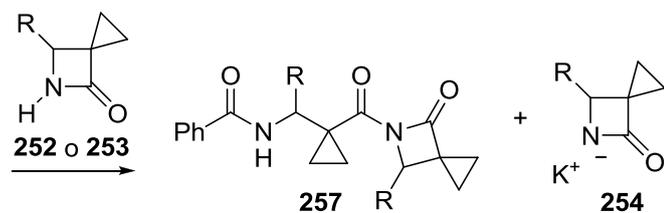
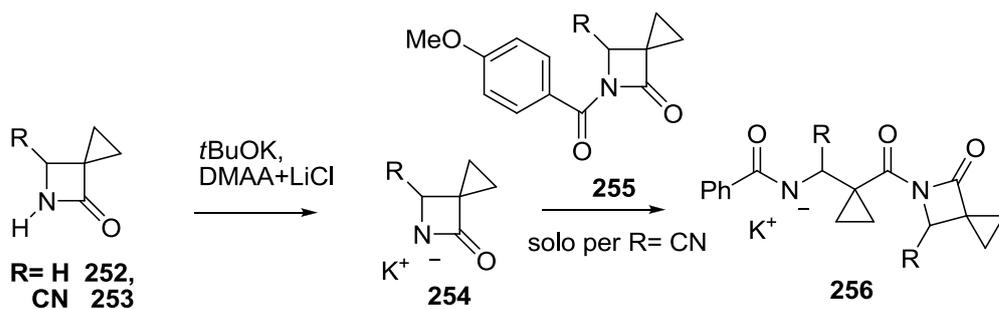
²⁰⁴ Jia, L.; Ding, E.; Anderson, W. R. *Chem. Commun.* **2001**, 1436.

²⁰⁵ (a) Rodríguez-Galán, A.; Muñoz-Guerra, S.; Subirana, J. A.; Chuong, B.; Sekiguchi, H. *Makromol. Chem., Makromol. Symp.* **1986**, *6*, 277. (b) Muñoz-Guerra, S.; López-Carrasquero, F.; Fernández-Santin, J. M.; Subirana, J. A. *Encyclopedia of Polymeric Materials* (Ed.: J. C. Salamone), CRC Press: Boca Raton, FL, **1996**, 4694. (c) Iarduya, A. M.; Alaman, C.; Garcia-Alvarez, M.; López-Carrasquero, F.; Muñoz-Guerra, S. *Macromolecules* **1999**, *32*, 3257. (d) Chen, F.; Lepore, G.; Goodmann, M. *Macromolecules* **1974**, *7*, 779. (e) Siesler, H. W. *Polymer* **1974**, *15*, 146. (f) Turner, S. R.; Schulz, R. C. *Makromol. Chem.* **1975**, *176*, 501. (g) Kricheldorf, H. R.; Schilling, G. *Makromol. Chem.* **1978**, *179*, 2667. (i) Yuki, H.; Okamoto, Y.; Taketani, Y.; Tsubota, T.; Marubayashi, Y. *J. Polym. Chem. Ed.* **1978**, *16*, 2237. (l) Masamoto, J.; Sasaguri, K.; Ohizumi, C.; Kobayashi, H. *J. Polym. Sci., Part A-2* **1978**, *8*, 1703.

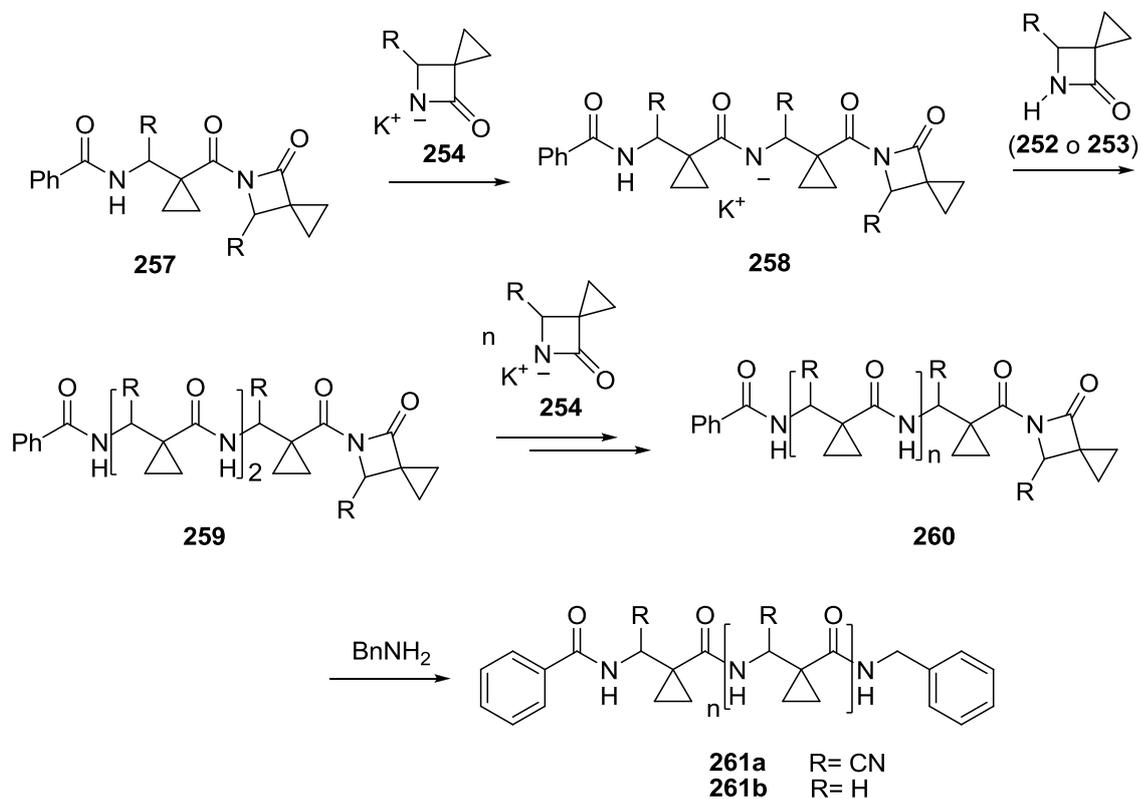
²⁰⁶ (a) Šebenda, J.; Hauer, J. *Polym. Bull.* **1981**, *5*, 529. (b) Udipi, K.; Davé, R. S.; Kruse, R. L.; Stebbins, L. R. *Polymer* **1997**, *38*, 927. (c) Davé, R. S.; Kruse, R. L.; Stebbins, L. R.; Udipi, K. *Polymer* **1997**, *38*, 939. (d) Rusu, Gh.; Ueda, K.; Rusu, E.; Rusu, M. *Polymer* **2001**, *42*, 5669. (e) Mougin, N.; Rempp, P.; Gnanou, Y. *Macromolecules* **1992**, *25*, 6739.

²⁰⁷ Cheng, J.; Deming, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9457.

²⁰⁸ (a) Hashimoto, K.; Okata, M.; Nagata, S. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1995**, *33*, 1995. (b) Hashimoto, K.; Oi, T.; Yasuda, J.; Hotta, K.; Okata, M. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1997**, *35*, 1831. (c) Hashimoto, K.; Yasuda, J.; Kobayashi, M. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1999**, *37*, 909.

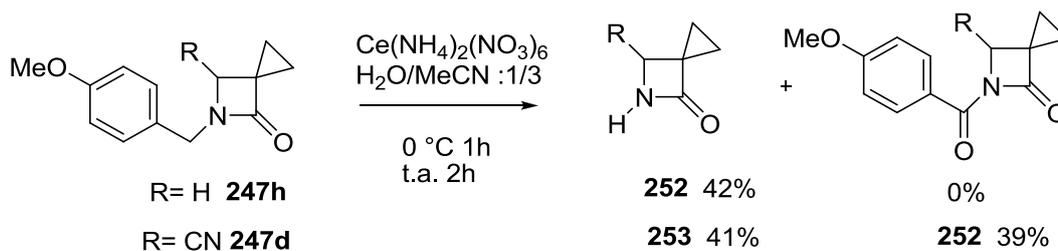


Schema 69: Step di iniziazione.



Schema 70: Step di propagazione e termine.

La deprotezione della funzione *p*-metossibenilica rispettivamente negli azetidioni **247h** e **247d** è stata effettuata mediante ossidazione con CAN (cerio ammonio nitrato)²⁰⁹ in una miscela di acetonitrile/acqua per un'ora a 0 °C e per 2 ore a temperatura ambiente. L'ossidazione effettuata sul β -lattame **247d** (R= CN) ha portato all'ottenimento del β -lattame *N*-deprotetto **253** insieme a *N*-(*p*-metossibenzoil)- β -lattame **252** in rapporto circa 1:1 (41% e 38%). Degno di nota il fatto che con un singolo passaggio si ottengono il β -lattame, prodotto su cui sarà effettuata la reazione di polimerizzazione e la specie ossidata che, nella medesima reazione, sarà impiegata come attivante. Nel caso in cui il processo di ossidazione sia applicato al β -lattame **247h** (R= H), invece, nelle stesse condizioni è stato ottenuto esclusivamente il prodotto di deprotezione **252** con una resa del 42% (**Schema 71**). Questo non si è dimostrato comunque un problema dato che per la polimerizzazione del β -lattame **252** non è necessaria l'aggiunta del prodotto acilato come attivante. Probabilmente le rese non sono molto elevate a causa della perdita del prodotto deprotetto **252** e **253** durante l'evaporazione del solvente, dato i loro bassi punti di ebollizione.



Schema 71: Ossidazione del metilene benzilico nei β -lattami **247h** e **247d**.

L'impiego di altri agenti ossidanti quali KMnO_4 e CrO_3 ^{146a} non ha apportato miglioramenti delle rese per le medesime reazioni. Altri tentativi di deprotezione della funzione amminica del β -lattame, ad esempio tramite debenzilazione catalitica,²¹⁰ sotto le condizioni di Birch (sodio in ammoniacca)^{211b} o con sodio persolfato^{211a} effettuati su substrati analoghi non si sono dimostrati efficienti ed hanno portato solo al recupero del prodotto di partenza o a prodotti derivanti dalla sua decomposizione.

²⁰⁹ Alcaide, B.; Gomez, A.; Plumet, J.; Rodrigez-Lopez, J. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 2751.

²¹⁰ Apertura dell'anello β -lattamico con sostituenti arilici sul C-4 in condizioni di idrogenolisi è stata precedentemente osservata: (a) Ojima, I.; Suga, S.; Abe, R. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3907. (b) Ojima, I.; Hatanaka, N.; Yodo, N.; Abe, R.; Yatabe, M.; Yamashita M. *Peptide Chemistry* **1982** (Ed.: S. Sakakibara), Protein Research Foundation, Osaka, **1983**, 29. (c) Ojima, I. *Advances in Asymmetric Synthesis* (Ed. Hassner), Jai Press Inc. Greenwich, CT, **1995**, *1*, 95.

²¹¹ (a) Aszodi, J.; Bonnet, A.; Teutsch, G. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 1579. (b) Annis, G. D.; Hebblethwaite, E. M.; Hodgson, S. T.; Hollinshead, D. M.; Ley, S. V. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1983**, 2851.

I processi di polimerizzazione avvengono in condizioni blande grazie all'utilizzo di soluzioni di cloruro di litio anidro in DMAA o DMF anidri. Il β -lattame **252** o **253** e la base, *t*BuOK, aggiunta in quantità catalitica vengono lasciati sotto agitazione magnetica in presenza dell'attivante **255** e la benzilammina viene aggiunta alla fine della reazione per terminare il processo e recuperare il polimero **261**. Il sale (5% mol. rispetto al prodotto di partenza) è stato precedentemente anidrificato sotto vuoto ad alta temperatura.

Il *t*-butossido di potassio, appena sublimato è stato usato come catalizzatore in piccole quantità (0.5 mol. %) per diminuire la velocità di polimerizzazione e quindi l'allargamento della distribuzione dei pesi molecolari. I polimeri ottenuti sono stati fatti precipitare per aggiunta nell'ambiente di reazione di una miscela acetone/acqua: 5/1 e dietilere, poi purificati ed isolati per dissoluzione in trifluoroetanolo e successive precipitazioni con la stessa miscela di solventi. La polvere ottenuta, recuperata per centrifugazione, ha un punto di fusione superiore ai 260 °C.

Nel caso del composto **261a** (R= CN) la dimetilacetammide (DMAA) è stata usata come solvente insieme al cloruro di litio, precedentemente anidrificato sotto vuoto. Per far precipitare il polimero ottenuto è stato usato dietilere per l'insuccesso nell'utilizzo della miscela acetone/acqua. Dopo il processo di purificazione una polvere bianca è stata raccolta mediante centrifugazione. Lo spettro IR del prodotto ottenuto mostra una larga banda che indica la presenza del legame N-H (3273 cm⁻¹) ma il segnale del C=O dell'anello β -lattamico (1753 cm⁻¹) è completamente scomparso dallo spettro mentre compare il segnale a 1672 cm⁻¹ del C=O dell'ammide aciclica. Il polimero non è risultato solubile nei solventi normalmente utilizzati per le misure ESI, questo non ci ha permesso di determinare la distribuzione di massa del polimero, ma solo le impurezze solubili, raccolte durante la procedura di isolamento del polimero. Ulteriori tentativi per la determinazione della distribuzione dei pesi molecolari via GPC sono risultati fallimentari per gli stessi motivi.

Per la polimerizzazione del composto **261b** (R= H) una soluzione di cloruro di litio in DMAA anidra è stata utilizzata come solvente e il *t*-butossido di potassio, appena sublimato è stato usato come catalizzatore. In questo caso non è risultato necessario aggiungere alla miscela di reazione l'attivante acilato per far iniziare il processo. La miscela acetone/acqua ha in questo caso permesso la solubilizzazione del polimero che poi è stato trattato con le stesse procedure previste per la purificazione e l'isolamento. Lo spettro IR del polimero mostra che la banda del segnale ammidico, tipico dei β -lattami, si è spostata a 1635 cm⁻¹ ed è apparso un secondo segnale a 1576 cm⁻¹, caratteristico delle poliammidi.

Anche se lo spettro IR ha dato risultati positivi, la completa caratterizzazione dei polimeri ottenuti **261a** e **261b** non è stata possibile per problemi di solubilizzazione dei solidi isolati nei comuni solventi utilizzati per le analisi spettroscopiche come NMR, spettrometria di massa, cromatografia a permeazione di gel.

La bassa solubilità è una caratteristica abbastanza comune delle poliammidi,^{208a} ma, in presenza di gruppi reattivi come un anello ciclopropanico tensionato o un gruppo nitrilico questa potrebbe diminuire ulteriormente per possibili reazioni tra 2 differenti catene. Probabilmente, le condizioni di reazione impiegate non evitano l'instaurarsi di tali interazioni. Questo potrebbe spiegare l'impossibilità pratica di dissolvere il polimero isolato.

Saranno necessari ulteriori studi per cercare di ottenere polimeri a più basso peso molecolare, e quindi più solubili, per permettere la loro determinazione strutturale.

7.3 CONCLUSIONI

- Sono stati sintetizzati diversi 3-spirociclopropan-2-azetidioni **247** attraverso reazioni di cicloaddizioni 1,3-dipolari tra nitroni aciclici **247** e BCP **151**. Il trattamento dei cicloaddotti ottenuti **246** in ambiente acido (generalmente TFA) ad alta temperatura porta alla formazione dei corrispondenti β -lattami **247** con buone rese attraverso un meccanismo definito di trasposizione termica in condizioni acide (ATR).
- La disponibilità dei β -lattami **247** permette di studiare la formazione dei polimeri e di studiare la struttura secondaria che essi assumono, i parametri che ne influenzano la stabilità e confrontare i risultati ottenuti con quelli derivanti da studi computazionali.
- Sono stati sintetizzati 2 poli β -peptidi attraverso il processo di polimerizzazione anionica proposto da Hashimoto su 3-spirociclopropan-2-azetidioni **252** e **253** aventi la funzione amminica libera. Dati i problemi riscontrati nella solubilizzazione dei polimeri ottenuti non è stato possibile determinare la distribuzione dei pesi molecolari di questi. Ulteriori studi saranno rivolti alla ricerca di differenti tecniche che ci permettano di caratterizzare più approfonditamente i polimeri ottenuti oppure ad ottenere polimeri a più basso peso molecolare, più solubili e quindi più facilmente caratterizzabili.

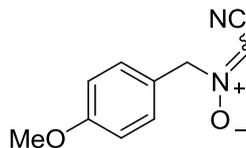
7.4 PARTE SPERIMENTALE

Le reazioni condotte per irraggiamento di microonde sono state eseguite con un apparecchio Cem Discover. Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro Bruker IFS 66 (FT-IR). Gli spettri NMR sono stati registrati con strumenti Bruker AM 250 (250 MHz per ^1H e 62.9 MHz per ^{13}C) e con Varian Mercury 200 (200 MHz per ^1H e 50.3 MHz per ^{13}C); i valori di *chemical shift* sono riportati in ppm e sono relativi al segnale del TMS ($\delta = 0.00$ ppm). Il solvente usato è CDCl_3 a meno che non venga diversamente specificato. Gli spettri di massa sono stati registrati a 70 eV per iniezione diretta con uno spettrometro Finnigan MAT 95. Le purificazioni dei prodotti sono state effettuate per via cromatografica mediante FCC (*flash column chromatography*) su gel di silice 32-63 Mesch. I valori di R_f si riferiscono a quelli ottenuti da TLC impiegando fogli di gel di silice dello spessore di 0.25 mm (Merk F₂₅₄); la rivelazione delle macchie è stata effettuata con una lampada U.V. (274 nm), con rivelatori *p*-anisaldeide, permanganato o ninidrina. I punti di fusione (p.f.) sono stati determinati con un apparecchio Büchi 510. Le analisi elementari sono state effettuate presso il Mikroanalytisches Laboratorium des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der Universität Göttingen.

ACRONIMI UTILIZZATI:

Ac= acetato, Ar= aril, Et= etil, Me= metil, Bn= benzil, BCP= biciclopropilidene, Ph= fenil, *m*-CPBA= acido metacloroperbenzoico, *c*-Pr= ciclopropil, THF= tetraidrofurano, DCM= diclorometano, DMAA= *N,N*-dimetilacrilammide, PMB= 4-metossibenzil.

N-(cianometilene)-1-(4-metossifenil)metanammina ossido



Cloroacetonitrile (22.6 g, 18.9 mL, 0.30 mol) e K_2CO_3 (55.3 g, 0.40 mol) vengono aggiunti ad una soluzione di *p*-metossibenzilammina (27.4 g, 26.1 mL, 0.20 mol) in acetonitrile (2 L) sotto vigorosa agitazione. Dopo aver lasciato la miscela di reazione per 12 ore sotto agitazione

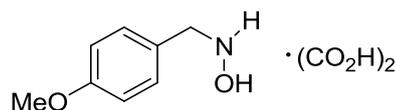
magnetica a 60 °C, la sospensione viene filtrata su uno strato di Celite, ed il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Il residuo viene purificato mediante colonna cromatografica (eluente: *n*-esano/Et₂O: 1/2, R_f= 0.20) per dare l'intermedio (28.0 g, 80% resa) come olio marrone. Alla soluzione di quest'ultimo (28.0 g, 0.160 mol) in CH₂Cl₂ anidro (760 mL) viene aggiunto *m*-CPBA (60.7 g, 0.352 mol) in piccole porzioni a 0 °C. Dopo aver lasciato la soluzione sotto agitazione magnetica per 30 min a 0 °C e per 1 ora a temperatura ambiente, vengono aggiunte una soluzione 10% acq. di Na₂S₂O₃ (300 mL) e una soluzione satura di NaHCO₃ (300 mL) e la miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica per un' altra ora. La fase acquosa viene estratta con CH₂Cl₂ (2×200 mL); le fasi organiche combinate vengono lavate con brine (2×200 mL), seccate e concentrate a pressione ridotta. Il nitrone **245d** (30.4 g, resa quantitativa, miscela 1:4 di isomeri *E* e *Z*), ottenuto come solido giallo, viene utilizzato nello *step* successivo senza un'ulteriore purificazione.

Un campione analitico è stato ottenuto mediante purificazione su colonna cromatografica (eluente: *n*-esano/Et₂O: 1/3).

245d: R_f= 0.24 (*n*-esano/Et₂O: 1/3); m.p.: 74–75 °C; **¹H-NMR (250 MHz)**: δ= 7.44–7.48 (m, 2 H; Ar, isomero *E*), 7.29–7.33 (m, 2 H; Ar, isomero *Z*), 6.90–6.99 (m, 4 H; Ar, isomero *Z* e *E*), 6.62 (s, 1 H; =CH, isomero *E*), 6.53 (s, 1 H; =CH, isomero *Z*), 5.24 (s, 2 H; CH₂, isomero *E*), 4.94 (s, 2 H; CH₂, isomero *Z*), 3.84 (s, 3 H; OCH₃, isomero *Z*), 3.82 (s, 3 H; OCH₃, isomero *E*); **¹³C-NMR (50.3 MHz)**: δ= 161.0 (s; Ar, isomero *Z*), 160.7 (s; Ar, isomero *E*), 131.5 (d, 2C; Ar, isomero *Z*), 131.0 (d, 2C; Ar, isomero *E*), 123.5 (s, Ar, isomero *E*), 122.4 (s; Ar, isomero *Z*), 115.3 (s; CN, isomero *E*), 114.8 (d, 2C; Ar, isomero *Z*), 114.3 (d, 2C; Ar, isomero *E*), 112.1 (s; CN, isomero *Z*), 107.0 (d; =CH, isomero *E*), 106.8 (d; =CH, isomero *Z*), 71.1 (t; CH₂, isomero *Z*), 69.4 (t; CH₂, isomero *E*), 55.4 (q; CH₃, isomero *Z*), 55.3 (q; CH₃, isomero *E*); **IR (KBr)**: ν= 3102, 2994, 2964, 2937, 2838, 2222, 1616, 1587, 1544, 1520, 1462, 1414; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 190 (2) [M⁺], 121 (100), 77 (12), 51 (8); **analisi elementare** calcolata per C₁₀H₁₀N₂O₂ (190.2): C 63.15, H 5.30, N 14.73; trovata: C 62.88, H 5.49, N 14.93.

***N*-(4-Metossibenzil)idrossilammina ossalato (248b):**

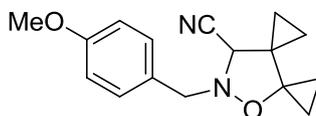


Ad una soluzione di *N*-(4-metossibenzil)-*C*-cianonitrone **246d** (4.70 g, 25.0 mmol) in MeOH (125 mL) viene aggiunto NH₂OH·HCl (8.70 g, 125 mmol). Dopo aver riscaldato la soluzione

sotto agitazione magnetica per 2 ore a 60 °C, la miscela risultante viene raffreddata a t.a., il MeOH viene evaporato a pressione ridotta, e poi viene aggiunto CHCl₃ (100 mL). La miscela viene filtrata su Celite; il filtrato viene concentrato e poi trattato con CHCl₃ (150 mL) e con una soluzione satura di NaHCO₃ (150 mL). La fase acquosa viene estratta con CHCl₃ (2×70 mL), e le fasi organiche riunite vengono lavate con brine, seccate su Na₂SO₄ e filtrate. Alla soluzione filtrata viene aggiunta una soluzione di acido ossalico (3.15 g, 250.0 mmol) in 25 mL di metanolo e la risultante sospensione viene evaporata a pressione ridotta. Il solido ottenuto viene triturato con una miscela etere dietilico/pentano e raccolto per filtrazione sotto vuoto. L'idrossilammina **248b** (4.84 g, 80% resa) analiticamente pura viene ottenuta come solido giallo.

248b: m.p.: 145 °C; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD): δ = 7.43–7.47 (m, 2 H; Ar), 7.01–7.05 (m, 2 H; Ar), 4.35 (s, 2 H; CH₂), 3.85 (s, 3 H; CH₃); ¹³C-NMR (62.9 MHz, CD₃OD): δ = 165.5 (s; (CO₂H)₂), 162.1 (s; Ar), 133.6 (d, 2C; Ar), 122.1 (s; Ar), 115.7 (d, 2C; Ar), 56.4 (t; CH₂), 56.0 (q; CH₃); IR (KBr): ν = 3424, 2932, 2837, 1721, 1612, 1515, 1454, 1306, 1253, 826, 710; **analisi elementare** calcolata per C₁₀H₁₃NO₆ (243.22): C 49.38, H 5.39, N 5.76; trovata: C 49.13, H 5.61, N 5.90.

8-(4-Metossibenzil)-7-ossa-8-azadispiro[2.0.2.3]nonano-9-carbonitrile (**246d**):

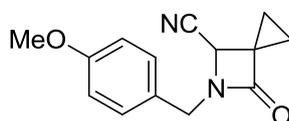


METODO 1 (Riscaldamento tradizionale): Una soluzione di nitrone **245d** (2.5 g, 13 mmol) e biciclopropilidene **151** (2.10 g, 26.2 mmol) viene lasciata sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente per 8 giorni. La soluzione viene concentrata a pressione ridotta e il grezzo di reazione viene purificato tramite colonna cromatografica su gel di silice (eluente: *n*-esano/Et₂O: 10/1) per ottenere il cicloaddotto **246d** (3.50 g, resa quantitativa) come solido incolore.

METODO 2 (Riscaldamento tramite irraggiamento con MW): Una soluzione di nitrone **245d** (38 mg, 0.20 mmol) e biciclopropilidene **151** (74 mg, 0.92 mmol) sciolti nella minima quantità di diclorometano (0.5 mL) viene riscaldata a 70 °C per un'ora tramite irraggiamento di microonde. Dopo aver raffreddato la soluzione fino a temperatura ambiente, questa viene concentrata a pressione ridotta e il grezzo di reazione viene purificato tramite colonna cromatografica su gel di silice (eluente: *n*-esano/Et₂O: 10/1) per ottenere il cicloaddotto **246d** (48 mg, 89% resa) come solido incolore.

246d: $R_f = 0.34$ (*n*-esano/Et₂O: 10/1); **m.p.:** 70–71 °C; **¹H-NMR (250 MHz):** $\delta = 7.30\text{--}7.37$ (m, 2H; Ar), 6.85–6.91 (m, 2H; Ar), 4.04–4.28 (m, 2H; NCH₂), 3.81 (s, 1H; CH), 3.80 (s, 3H; OCH₃), 0.82–1.04 (m, 4H; *c*-Pr), 0.36–0.70 (m, 4H, *c*-Pr); **¹³C-NMR (75.5 MHz, C₂D₂Cl₄, 100 °C):** $\delta = 159.4$ (s; Ar), 130.1 (d, 2C; Ar), 127.3 (s; Ar), 116.2 (s; CN), 114.1 (d, 2C; Ar), 66.2 (s; C-6), 62.3 (d; CH), 60.2 (t; NCH₂), 55.2 (q; OCH₃), 30.5 (s; C-3), 10.5 (t; *c*-Pr), 7.7 (t; *c*-Pr), 7.4 (t; *c*-Pr), 6.9 (t; *c*-Pr); **IR (KBr):** $\nu = 3075, 3010, 2934, 2868, 2838, 2246, 1611, 1585, 1512, 1468$; **MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 270 (20) [M⁺], 241 (8), 135 (25), 121 (100); **analisi elementare** calcolata per C₁₆H₁₈N₂O₂ (270.3): C 71.09, H 6.71, N 10.3; trovata: C 70.97, H 6.58, N 10.12.

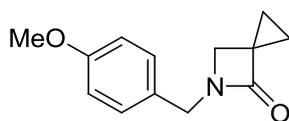
5-(4-Metossibenzil)-6-osso-5-azaspiro[2.3]esan-4-carbonitrile (247d):



Ad una soluzione di isossazolidina **248d** (2.00 g, 7.40 mmol) in acetonitrile (45mL) viene aggiunto a temperatura ambiente acido trifluoroacetico (1.01 g, 0.68 mL, 8.88 mmol) e la miscela risultante viene scaldata a 70 °C per 12 ore. Dopo aver raffreddato la miscela fino a temperatura ambiente, questa viene filtrata su celite, concentrata a pressione ridotta ed il grezzo di reazione ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice (eluente: *n*-esano/Et₂O: 1.5/1) per dare il β -lattame **249d** (1.68 g, 94% resa) come solido incolore.

247d: $R_f = 0.10$ (*n*-esano/Et₂O: 1.5/1); **m.p.:** 54–56 °C; **¹H-NMR (250 MHz):** $\delta = 7.20\text{--}7.26$ (m, 2H; Ar), 6.84–6.93 (m, 2H; Ar), 4.75 (d, $J = 15.0$ Hz, 1 H; NCH₂H), 4.18 (d, $J = 15.0$ Hz, 1 H; NCH₂H), 4.10 (s, 1H; CH), 3.80 (s, 3H; OCH₃), 1.30–1.44 (m, 2H; *c*-Pr), 1.14–1.27 (m, 2H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (62.9 MHz):** $\delta = 169.6$ (s, C=O); 159.5 (s; Ar), 129.8 (d, 2C; Ar), 125.9 (s; Ar), 115.7 (s; CN), 114.3 (d, 2C; Ar), 55.2 (q; OCH₃), 46.4 (d; CH), 45.5 (t; NCH₂), 38.2 (s; C-3), 9.0 (t; *c*-Pr), 8.2 (t; *c*-Pr); **IR (KBr):** $\nu = 3003, 2973, 2913, 2867, 2841, 2249, 1754, 1613, 1585, 1515$; **MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 242 (40) [M⁺], 213 (15), 121 (100); **analisi elementare** calcolata per C₁₄H₁₄N₂O₂ (242.3): C 69.41, H 5.82, N 11.56; trovata: 69.14, H 5.61, N 11.37.

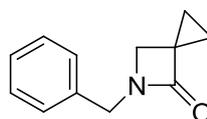
5-(4-Metossibenzil)-5-azaspiro[2.3]esan-4-one (247h):



L'idrossilammina **248b** (600 mg, 2.47 mmol), sodio acetato (202 mg, 2.47 mmol), una soluzione di formaldeide (8.0 M.) in acqua (0.176 mL, 1.54 mmol) e biciclopropilidene **151** (123 mg, 1.54 mmol) in etanolo (1.50 mL) vengono riscaldati tramite irraggiamento con microonde a 80 °C per un'ora. Dopo aver raffreddato la soluzione fino a temperatura ambiente, il solvente viene evaporato a pressione ridotta. Quantità uguali (10 mL) di acqua e acetato di etile vengono aggiunte e la fase acquosa viene estratta 3 volte con acetato di etile, dopo aver basificato la miscela fino a pH= 8 con una soluzione satura di NaHCO_3 . Le fasi organiche riunite, poi, vengono lavate con brine, seccate su Na_2SO_4 e il prodotto grezzo viene purificato mediante colonna cromatografica (eluente: n-esano/ Et_2O : 3/1) per dare il β -lattame **247h** (0.311 g, 58% resa) come olio giallo.

247h: R_f = 0.28 (n-esano/ Et_2O : 3/1); **$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz)**: δ = 7.17–7.23 (m, 2H; Ar); 6.85–6.91 (m, 2H; Ar), 4.40 (s, 2H; Ph- CH_2), 3.80 (s, 3H; OCH_3), 3.30 (s, 2H; CH_2 lattame), 1.16–1.21 (m, 2H; *c*-Pr), 0.90–0.95 (m, 2H; *c*-Pr); **$^{13}\text{C-NMR}$ (62.9 MHz)**: δ = 172.3 (s; C=O), 158.9 (s; Ar), 129.2 (d, 2C; Ar), 127.8 (s; Ar), 113.9 (d, 2C; Ar), 55.1 (q; CH_3), 47.7 (t; NCH_2), 45.6 (t; NCH_2), 31.8 (s; C-3), 7.33 (t, 2C; *c*-Pr); **IR** (KBr): ν = 3080, 3001, 2936, 2894, 2839, 1732, 1512, 1401; **MS** (70 eV, EI): m/z (%)= 217 (100), 186 (8), 163 (10), 121 (85), 78 (10); **analisi elementare** calcolata per $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ (217.26): C 71.87, H 6.96, N 6.45; trovata: C 72.07, H 7.10, N 6.30.

5-Benzil-5-azaspiro[2.3]esan-4-one (247g):



L'idrossilammina cloridrata **248a** (638 mg, 4.00 mmol), sodio acetato (328 mg, 4.00 mmol), una soluzione di formaldeide (8.0 M.) in acqua (0.250 mL, 2.00 mmol) e biciclopropilidene **151** (0.190 mL, 160 mg, 2.00 mmol) in etanolo (1.75 mL) vengono riscaldati tramite irraggiamento con microonde a 100 °C per un'ora. Dopo aver raffreddato la soluzione fino a temperatura ambiente, la miscela viene trasferita in un pallone e il solvente viene evaporato a pressione ridotta. Quantità uguali (15 mL) di acqua e acetato di etile vengono aggiunte e la fase acquosa viene estratta 3 volte

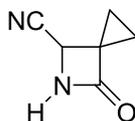
con acetato di etile, dopo aver basicato la miscela fino a pH= 8 con una soluzione satura di NaHCO₃. Le fasi organiche riunite, poi, vengono lavate con brine, seccate su Na₂SO₄ e il prodotto grezzo viene purificato mediante colonna cromatografica (eluente: n-esano/Et₂O: 2/1) per dare il β-lattame **247g** (0.272 g, 68% resa) come olio giallo.

247g: R_f = 0.23 (*n*-esano/Et₂O: 2/1); **¹H-NMR (250 MHz)**: δ= 7.17–7.39 (m, 5H; Ar), 4.47 (s, 2H; CH₂), 3.33 (s, 2H; CH₂), 1.18–1.23 (m, 2H; *c*-Pr), 0.92–0.97 (m, 2H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (62.9 MHz)**: δ= 172.6 (s; C=O), 136.0 (s; Ar), 128.7 (d, 2C; Ar), 128.1 (d, 2C; Ar), 127.6 (d; Ar), 48.1 (t; NCH₂), 46.3 (t; NCH₂), 32.1 (s; C-3), 7.6 (t, 2C; *c*-Pr); **IR (KBr)**: ν= 3064, 3004, 2890, 1751, 1496, 1455, 1395, 1354; **MS** (70 eV, EI): *m/z* (%)= 187 (44), 131 (10), 91 (100), 54 (21); **analisi elementare** calcolata per C₁₂H₁₃NO (187.24): C 76.98, H 7.00, N 7.48; trovata: C 76.83, H 7.13, N 7.25.

Deprotezione del β-Lattame 247d:

Ad una soluzione del β-lattame **247d** (900 mg, 3.72 mmol) in acetonitrile (40 mL) viene aggiunta a 0 °C una soluzione di cerio ammonionitrato (CAN 6.63 g, 12.1 mmol) in acqua (85 mL). La miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica per 20 minuti alla stessa temperatura e poi per un'ora a temperatura ambiente. La soluzione viene estratta con acetato di etile (3×50 mL), le fasi organiche riunite vengono lavate successivamente con una soluzione 10% aq. di Na₂SO₃ (2×50 mL), una soluzione 5% aq. di NaHCO₃ (2×50 mL) e brine (50 mL), seccate su Na₂SO₄ e concentrate a pressione ridotta. La purificazione cromatografica (eluente: n-esano/Et₂O: 1/2) del residuo grezzo ha portato a **6-osso-5-azaspiro[2.3]esan-4-carbonitrile (253)** (186 mg, 41% resa) come solido incolore e **5-(4-metossibenzoil)-6-osso-5-azaspiro[2.3]esan-4-carbonitrile (255)** (362 mg, 38% resa) come solido incolore.

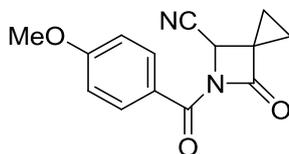
6-Osso-5-azaspiro[2.3]esan-4-carbonitrile (253):



253: R_f = 0.15 (*n*-esano/Et₂O: 1/2); **m.p.**: 72–73 °C; **¹H-NMR (250 MHz)**: δ= 6.40 (s, 1H; NH), 4.44 (s, 1H; 4-H), 1.41–1.48 (m, 2H; *c*-Pr), 1.26–1.37 (m, 2H; *c*-Pr); **¹³C-NMR (62.9 MHz)**: δ= 171.5 (s; C=O), 116.9 (s; CN), 43.6 (d; CH), 39.8 (s; C-3), 9.8 (t; *c*-Pr), 9.1 (t; *c*-Pr); **IR (KBr)**: ν= 3250, 3097, 2720, 2249, 1763, 1331; **MS** (70 eV, EI): *m/z* (%)= 122 (12) [M⁺], 79 (50), 52 (100);

analisi elementare calcolata per $C_6H_6N_2O$ (122.1): C 59.01, H 4.95, N 22.94; trovata: C 59.20, H 5.08, N 22.81.

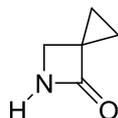
5-(4-Metossibenzoil)-6-osso-5-azaspiro[2.3]esan-4-carbonitrile (255):



255: $R_f = 0.38$ (*n*-esano/ Et_2O : 1/4); **m.p.:** 109-110 °C; **1H -NMR (250 MHz):** $\delta = 8.08$ –8.14 (m, 2H; Ar), 6.95–7.01 (m, 2H; Ar), 4.92 (s, 1H; H-4), 3.89 (s, 3H; OCH_3), 1.47–1.67 (m, 4H; *c*-Pr); **^{13}C -NMR (62.9 MHz):** $\delta = 166.3$ (s; *), 164.3 (s; *), 163.3 (s; *), 132.6 (d, 2C; Ar), 122.2 (s; Ar), 115.4 (s; CN), 113.8 (d, 2C; Ar), 55.5 (q; CH_3), 44.4 (d; C-4), 34.8 (s; C-3), 12.2 (t; *c*-Pr), 11.4 (t; *c*-Pr); **IR (KBr):** $\nu = 3084, 3005, 2977, 2938, 2843, 2251, 1798, 1666, 1603, 1576, 1514$; **MS (70 eV, EI):** m/z (%) = 256 (20) [M^+], 135 (100), 92 (9), 77 (9); **analisi elementare** calcolata per $C_{14}H_{12}N_2O_3$ (256.3): C 65.62, H 4.72, N 10.93; trovata: C 65.75, H 4.61, N 11.15.

*= non assegnabili

5-Azaspiro[2.3]esan-4-one (252):



Ad una soluzione di **247h** (408 mg, 1.88 mmol) in acetonitrile (25 mL) viene aggiunta lentamente a 0 °C una soluzione di cerio ammonio nitrato (CAN 2.059 g, 3.75 mmol) in acqua (8.5 mL). Dopo 1 h vengono aggiunte porzioni aggiuntive di CAN (628 mg, 1.14 mmol) a temperatura ambiente. Dopo 2 ore alla miscela di reazione vengono aggiunti acqua (50 mL) e acetato di etile (50 mL). Le due fasi vengono separate e la fase acquosa viene estratta con acetato di etile (3×50 mL). Le fasi organiche riunite vengono lavate con una soluzione satura di $NaHCO_3$ e poi seccate su Na_2SO_4 . Dopo filtrazione ed evaporazione del solvente a pressione ridotta, il prodotto grezzo viene purificato mediante colonna cromatografica (eluente: *n*-esano/ Et_2O : 1/6) per dare **252** (76.7 mg, 42% resa) come olio incolore.

252: $R_f = 0.12$ (*n*-esano/ Et_2O : 1/6); **1H -NMR (250 MHz):** $\delta = 7.09$ (bs, 1H; NH), 3.43–3.45 (d, $J = 5.0$ Hz, 2H; CH_2), 1.16–1.28 (m, 2H; *c*-Pr), 0.87–1.11 (m, 2H, *c*-Pr); **^{13}C -NMR (50.3 MHz):** $\delta = 172.5$ (s; C=O), 48.2 (t; C-2), 31.5 (s; C-3), 8.2 (t, 2C; *c*-Pr).

Polimerizzazione anionica di 253 (R= CN): LiCl (14 mg, 0.325 mmol) viene prima anidrificato riscaldandolo sotto vuoto a 130 °C per 3 ore in tubo Schlenk. Una soluzione di **253** (80 mg, 0.650 mmol) in DMAA anidro (2.0 mL) viene aggiunta in atmosfera di N₂. La specie attivante **255** (4.00×10^{-3} g, 0.016 mmol) e *t*BuOK (1.0×10^{-3} g, 0.9×10^{-5} mmol) vengono aggiunti alla soluzione. Dopo 1 ora viene aggiunta alla soluzione a temperatura ambiente benzilammina (1 goccia) e la miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica per 72 h. Nel pallone di reazione viene aggiunta una miscela acetone/acqua: 5/1 per solubilizzare il polimero e dietilere per ottenere la precipitazione del solido che poi viene raccolto per centrifugazione. Il solido di colore bianco viene risolto in 2,2,2-trifluoroetanolo, fatto precipitare nuovamente, raccolto e infine seccato sotto vuoto. Vengono ottenuti 50 mg di solido bianco **261a** il cui punto di fusione è maggiore di 260 °C. Il polimero ottenuto non risulta solubile nei comuni solventi impiegati per ulteriori caratterizzazioni (NMR, massa, etc.)

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3604 \text{ cm}^{-1}, 3273, 3010, 1754, 1672, 1530, 1416, 1351, 1146$.

Polimerizzazione anionica di 252 (R=H): LiCl (108 mg, 2.55 mmol) viene prima anidrificato riscaldandolo sotto vuoto a 130 °C per 3 ore in tubo Schlenk, a questo viene aggiunta in atmosfera di N₂ una soluzione di **252** (124 mg, 1.28 mmol) in DMAA anidro (1.2 mL). *t*BuOK (1.0×10^{-3} g, 0.9×10^{-5} mmol) viene aggiunto alla soluzione. Dopo un'ora viene aggiunta alla soluzione a temperatura ambiente benzilammina (1 goccia) e la miscela viene lasciata sotto agitazione magnetica per 72 h. Nel pallone di reazione viene aggiunta una miscela acetone/acqua: 5/1 per solubilizzare il polimero e dietilere per ottenere la precipitazione del solido che poi viene raccolto per centrifugazione. Il solido di colore bianco viene risolto in 2,2,2-trifluoroetanolo e fatto precipitare nuovamente. Questo viene, poi, raccolto e seccato sotto vuoto. Vengono ottenuti 124 mg di solido bianco **261b** il cui punto di fusione è maggiore di 260 °C. Il polimero ottenuto non risulta solubile nei comuni solventi impiegati per ulteriori caratterizzazioni (NMR, massa, etc.).

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3081 \text{ cm}^{-1}, 3005, 2934, 1635, 1576, 1365, 1203$.